Die
Verwandlungsfähigkeit der Bakterien.

Experimentelles und Kritisches mit besonderer Berücksichtigung der Diphtheriebacillengruppe.

Habilitationsschrift

zur Erlangung der Venia docendi in der Hygiene

der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Vereinigten Friedrichs-Universität Halle-Wittenberg

vorgelegt von

Dr. **K. E. F. Schmitz.**

Jena.
Gustav Fischer.
1916.

Die Verwandlungsfähigkeit der Bakterien.

Experimentelles und Kritisches mit besonderer Berücksichtigung der Diphtheriebacillengruppe.

Habilitationsschrift

zur Erlangung der Venia docendi in der Hygiene

der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Vereinigten Friedrichs-Universität Halle-Wittenberg

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

vorgelegt von

Dr. K. E. F. Schmitz.

Jena.
Gustav Fischer.
1916.

Abdruck aus dem
Centralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten.
Erste Abteilung. Originale.
Herausgegeben von
Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. O. Uhlworm und Geh. Reg.-Rat Dr. A. Weber
in Berlin. 77. Bd. 1916.

Einteilung.

Seite

Einleitung 5

I. Die Umformung der Diphtheriebacillen durch den Meerschweinchenkörper . 10

A. Verwandlungsversuche der Diphtheriebacillen durch Einspritzung in die Blutbahn von Meerschweinchen 10

B. Umwandlungsversuche mittels in die Meerschweinchenbauchhöhle eingelegter Kollodiumsäckchen 28

C. Zusammenfassende Darstellung der bisherigen Beobachtungen, verglichen mit dem Ausfall von Komplementablenkungsversuchen 31

II. Folgerungen für die Beurteilung der natürlich vorkommenden Pseudodiphtheriebacillen 46

III. Schlußfolgerungen für die Lehre der Bakterienveränderungen 48

Schrifttum 54

Erklärung der Abbildungen 55

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546024_0044

Einleitung.

Wie schon früher in anderen Gebieten der Naturwissenschaften hat auch in der Bakteriologie die Frage nach der Unveränderlichkeit der Arten eine große Rolle gespielt. Besonders in der Jugendzeit dieser Wissenschaft haben mancherlei Versuche viele Forscher zu der Ansicht gebracht, daß das Formenreich unter diesen Lebewesen niederster Art nicht so festgelegt sei wie bei den höheren und daß ein und dasselbe Wesen einmal in dieser und dann in jener Gestalt auftreten, daß es auch ganz verschiedene Lebensäußerungen je nach Nährboden und Gelegenheit darbieten könne.

Ich brauche hier nur an die Coccobacteria septica Billroths und an die Umzüchtungen Halliers von Mikrokokken in alle möglichen Schimmelarten und an seine darauf fußenden Lehren zu erinnern.

Dieses ganze Gebäude stürzte jedoch in dem Augenblick, als durch Koch die Gewinnung von Reinzuchten der Bakterien gelehrt wurde. Man konnte mit dem neuen Verfahren nachweisen, daß das Festhalten der Form auch bei den Bakterien in weitgehendem Maße vorhanden war.

In der Bestätigung und kraftvollen Hervorhebung dieses Grundsatzes liegt eines der Hauptverdienste der Lebensarbeit Kochs, ohne diesen Grundsatz wäre eine Klarstellung der Aetiologie bei den verschiedenen Infektionskrankheiten unmöglich gewesen. Diese Erkenntnis war die Vorbedingung der großen Erfolge, der Entdeckung des Tuberkelbacillus, des Choleravibrios usw.

Durch die Forschungen Kochs und seiner Schule waren die einzelnen Bakterien, insbesondere die Infektionserreger, als unveränderliche Arten festgelegt worden, aber doch ergaben sich bald Zweifel an ihrer völligen Unveränderlichkeit. Die genauere Forschung führte zu der Erkenntnis, daß einzelne Abweichungen von den bisher als unumstößlich festgelegten Merkmalen vorkommen. Ich sehe hier ab von den Versuchen, die mit unreinen Kulturen unternommen wurden und die Umwandlung z. B. des Milzbrandbacillus in Heubacillen zeigen sollten, sie gehören zwar nicht der Zeit, aber nach der Art der angewandten Untersuchungsverfahren in den Zeitabschnitt vor R. Koch. Die erste sichere Kunde über kleine Abweichungen von den Artmerkmalen sind wohl die Beobachtungen Grubers und Firtschs aus dem Jahre 1888.

Aber offenbar waren Zeit und Untersuchungsverfahren für diese schwierige Forschung noch nicht bereit. Es blieb auf diesem Gebiete im allgemeinen still, bis fast zwei Jahrzehnte später Neisser und Massini mit der Beschreibung des Bacterium coli mutabile den Anstoß zu ganz neuer Bearbeitung und zu neuer Fragestellung gaben. In der Zwischenzeit hatte sich in den verwandten Gebieten der Zoologie und der höheren Botanik eine neue Wissenschaft gebildet, die experimentelle Vererbungslehre. Deren Grundsätze, Fragestellungen und Untersuchungsverfahren wurden allsogleich mutatis mutandis für die Variabilitätsforschung der Bakterien übernommen und wirkten außerordentlich befruchtend, was sich am deutlichsten in der großen Zahl von Arbeiten zeigt, die in dem letzten Jahrzehnt über diesen Vorwurf geschrieben sind.

Aber nicht allein die rein wissenschaftliche Frage der Entstehung und Umbildung der einzelnen Arten war es, was hier vorwärts drängte. In gleicher Richtung trieb auch ein Anstoß, der in letzter Hinsicht in einem Nützlichkeitsbedürfnis bestand. In gewissen Gruppen der Bakterien ist nämlich der Unterschied der krankmachenden und nicht krankmachenden so gering und wird durch ohne unser Zutun auftretende Varietäten und Uebergänge aller Art so verwischt, daß die Erkennung der betreffenden übertragbaren Krankheiten mit Hilfe der bakteriologischen Untersuchung dadurch ungeheuer erschwert wird. Das zwingende Bedürfnis, hier die Verhältnisse möglichst klar zu überschauen, war eine mächtige Triebfeder zum Studium der Veränderlichkeitserscheinungen bei Bakterien.

In der Hauptsache sind es zwei Bakteriengruppen, die hier die Untersucher beschäftigen. Erstens die Typhus-Coli-Gruppe. Sie wurde von zahlreichen Forschern sehr genauen Untersuchungen unterworfen.

Während aber bei dieser Gruppe die Verwandtschaft der einzelnen Glieder nie bezweifelt wurde, war diese Frage bei der zweiten, der Diphtherie-Pseudodiphtheriegruppe schon Gegenstand heftigsten Streites. Er war entfacht worden durch Roux und Yersin, die in mehreren Arbeiten in den Jahren 1888—1890 die Lehre aufstellten, daß die Pseudodiphtheriebacillen weiter nichts seien als Abkömmlinge der echten Diphtheriebacillen und daß auch der umgekehrte Weg der Verwandlung von Pseudodiphtheriebacillen in echte Diphtheriebacillen durchaus möglich sei.

In der Folgezeit standen sich dann die Anhänger der beiden Lehren, die Dualisten und die Unisten, gegenüber, ohne daß eine Entscheidung möglich schien.

Die früheren, auf Versuche gestützten Arbeiten über den genannten Streitpunkt waren besonders in einer Beziehung anfechtbar. Die Entscheidung der Forscher, ob Diphtherie- oder Pseudodiphtheriebacillen vorlagen, wurde häufig nur nach morphologischen Gesichtspunkten getroffen. Manchmal wurde auch noch die Giftigkeit bestimmt, aber ausschlaggebend war auch der Ausfall eines solchen Versuches nicht, denn wie man bald erkannte, gab es echte Diphtheriestämme, die trotzdem nicht krankmachend für Tiere waren. Diese Unsicherheit in der Entscheidung, ob ein Bacillus zu der einen oder anderen Gruppe gehöre, ist der Grund dafür, daß die Forscher so außerordentlich verschiedene

Befunde erhoben. Eine bessere Unterscheidung war erst möglich, nachdem man in der Züchtung in verschiedenen Nährböden ein geeignetes Mittel zur Unterscheidung kennen gelernt hatte.

Zu einer Arbeit, die in der Zeitschr. f. Hyg. Bd. 75 im Jahre 1913 erschien (auf deren Schrifttum zum Streite über die Pseudodiphtheriebacillen ich hiermit überdies verweise), benutzte ich die inzwischen gesammelten Kenntnisse über die in künstlichen Nährböden bekundeten Eigenschaften der Diphtheriebacillen und Pseudodiphtheriebacillen, um mittels planmäßig angelegter Untersuchungen der Lösung der Frage näher zu kommen[1]).

Ich untersuchte eine Reihe von Diphtheriebacillen und Pseudodiphtheriebacillen auf allen zu Gebote stehenden Nährböden, um festzustellen, ob nicht zwischen den „echten virulenten Diphtheriebacillen“ und den Diphtheroiden Uebergangsformen zu finden wären. Insbesondere fahndete ich nach einer Zwischengruppe atypische, aber „virulente“, die nach Meinung eines der Führer der Dualisten, Neisser, nicht vorkommen sollen. In der Tat gelang es mir, unter den 44 untersuchten Stämmen einen herauszufinden, auf den diese Bezeichnung mit einiger Vorsicht anwendbar schien. Dieser Bacillus (No. 462) verhielt sich nämlich bei der Neisser-Färbung negativ und besaß dabei eine große Giftigkeit für Meerschweinchen.

Die Kulturprüfung der übrigen Bacillen ergab, daß auch sonst alle Uebergänge vorhanden waren; z. B. war die Vergärungsmöglichkeit für Traubenzucker bei echten virulenten Stämmen durchaus nicht gleich entwickelt, und andererseits besaßen die nach Form und Färbbarkeit zweifelhaften Diphtheriebacillen wie die Diphtheroiden (beide Gruppen avirulent) zum Teil erhebliche Vergärfähigkeit. Um die genannten Uebergänge nun übersichtlich vor Augen zu führen, bin ich folgendermaßen vorgegangen.

Ich bin mir wohl bewußt, daß mein Vorgehen eine gewaltsame Zergliederung der wahren Verhältnisse bedeutet, aber diesen Fehler teilt es mit jeder unserer willkürlichen Ordnungen, mit denen wir die Natur in Reiche, Arten usw. teilen. Ich gehe bei der Einteilung davon aus, daß dem echten Diphtheriebacillus 5 Eigenschaften zukommen, die den Diphtheroiden fehlen. Das sind:

1. Form und Lagerung, d. h. schlanke, lange Bacillen mit V- und T-Lagerung,
2. Färbbarkeit, d. h. Entfärbung bis auf die Polkörner bei der Neisserschen Doppelfärbung,
3. Wachstum im tiefen Agarstich, d. h. unter anaëroben Verhältnissen,
4. Vergärung des Traubenzuckers, d. h. bei Prüfung im Thielschen Nährboden Rötung und Trübung,
5. Virulenz, d. h. Bildung von Diphtheriegift (nachweisbar im Tierversuch, subkutan oder intrakutan).

---

1) Für die Unterscheidung der Diphtherie- von den Pseudodiphtheriebacillen erkannte ich in genannter Arbeit nur die weiter unten angegebenen 5 Kennzeichen als allein verläßlich. Nur der Bacillus, der alle 5 Kennzeichen voll besitzt, gehört zum vollen Typus des Diphtheriebacillus.

Der Abkürzung halber werden die 5 Eigenschaften mit 5 Buchstaben bezeichnet: **m** bedeutet also Form (Morphologie), **n** = Färbbarkeit (Neisser), **t** = Tiefenwachstum im Agarstich, **s** = Säurebildung (Vergärung von Traubenzucker), **v** = die Virulenz.

Nach der Feststellung des Verhaltens in diesen 5 verschiedenen Richtungen bestimme ich ganz einfach die Zahl der übriggebliebenen „typischen" Eigenschaften. Wenn die Prüfung auf die eine oder die andere Eigenschaft zweifelhaft ausgefallen ist, so läßt sich das ebenfalls sehr gut durch einen Bruch ausdrücken.

Wenn z. B. ein Bacillus in Form, Färbbarkeit und im Agarstich sich „typisch" verhält, aber avirulent ist und den Thiel nur schlecht rötet, so hat er **s** zur Hälfte und **v** ganz verloren; ich schreibe das sehr einfach **s/2 v**. In den übrigen Punkten ist er normal geblieben, seine Zahl der typisch gebliebenen Punkte ist also $3^1/2$; die volle Formel für den Stamm ist dann also: $3^1/2$ **s/2 v**. Fehlt einem Stamme an 2 Eigenschaften die Hälfte, ist er z. B. Neisser zweifelhaft und im tiefen Agarstich zweifelhaft, so erhält er den Bruch $^2/2$. So hat z. B. der Stamm 265b die Formel: $1^2/2$ = **m n/2 t/2 v**, d. h. er ist in einem ganzen und zwei halben Punkten typisch; vollkommen atypisch ist er in m, auch in v; bei der Prüfung von n und t verhält er sich zweifelhaft.

Tabelle I.

I. Von den 24 echten Diphtheriebacillen waren typisch in allen 5 Punkten 19.

Stamm No.	war typisch in . . . Punkten	es fielen aus die Punkte
201	4 (+ $^1/_2$)	v (schwach)
122 (av.)	4	v
6709 (av.)	4	v
462 (vir.)	4	n
188 (av.)	3	s und v

II. Von den 4 zweifelhaften:

84	$3^1/_2$	m/2 und v
87	$2^1/_2$	m/2 t und v
375	$2^1/_2$	m t/2 und v
85	$^2/_2$	m/2 n/2 t s v

III. Von den 16 Diphtheroiden:

2656	$1^2/_2$	m n/2 t/2 v
80	1	m t s v
282	$^1/_2$	m n/2 t s v
2049	$^1/_2$	m n t s/2 v

Die übrigen 12 waren in allen Punkten atypisch.

Soweit die Verhältnisse überhaupt mit Zahlen ausgedrückt werden können, zeigt sich ganz deutlich, daß hier von dem in allen 5 Punkten typischen Diphtheriebacillus bis zum Diphtheroiden, der gar keinen der 5 Punkte mehr besitzt, nahezu alle Uebergänge vorhanden sind.

Wenn nun auch alle diese Beobachtungen die Wahrscheinlichkeit eines Zusammengehörens des Diphtheriebacillus und des Pseudodiphtheriebacillus ergeben, so haben sie doch nur den Wert eines „Indizienbeweises". Eine endgültige Lösung der Frage konnte nur dann gefunden werden, wenn es gelang, den einen in den anderen Bacillus überzuführen. Diesen Weg hatten einige Forscher bereits vor

längerer Zeit beschritten. Schon Roux und Yersin berichteten von solchen Versuchen, aber allen diesen Erfolgen kann entgegengehalten werden, daß vielleicht doch nicht „mit reinen Linien“ der betreffenden Bakterien gearbeitet worden ist. Es war bei den gewöhnlichen Reinkulturen nicht auszuschließen, daß in ihnen 2 oder gar mehrere Stämme ständig in gleichem Maße weiter gezüchtet wurden.

Auf dem Mikrobiologentag in Berlin 1913 beschrieben nun Bernhardt und Paneth eine neue Versuchsanordnung, mit Hilfe deren sie sicher reine Linien der Diphtheriebacillen in pseudoartige umwandeln konnten. Wenn nämlich Diphtheriebacillen durch den Tierkörper geschickt wurden, indem sie Meerschweinchen in die Blutbahn eingespritzt wurden, so waren sie bei der Herauszüchtung aus der Milz, aus der Leber usw. zum Teil in Form und Färbbarkeit verwandelt, so daß sie durchaus wie Pseudodiphtheriebacillen erschienen; sie waren gleichzeitig auch avirulent geworden.

In diesem Vorgehen lag nun eine Möglichkeit, auf einem neuen Wege die Beziehungen der Diphtherie- zu den Pseudodiphtheriebacillen zu klären. Aber auch die rein wissenschaftlichen Fragen der Vererbung bei Diphtheriebacillen konnten auf diese Weise für einen neuen Bakterienkreis erforscht werden, und so begann ich denn sofort nach Abschluß der oben genannten Arbeit mit Umwandlungsversuchen bei Diphtheriebacillen. Ganz kurz ist über einen Teil dieser Versuche bereits von Römer in der Berl. klin. Wochenschr. 1914 berichtet worden.

Bevor ich auf die genaue Schilderung meiner Versuche eingehe, möge noch etwas über die umbildende Kraft des Menschenkörpers auf die Diphtheriebakterien gesagt sein.

Schon von Frosch war im Anfange der 90er Jahre beobachtet worden, daß, wenn Diphtheriebacillen im Innern von Diphtherieleichen gefunden wurden, dieselben häufig ganz atypisch waren. Jakobsthal berichtete auf dem Mikrobiologenkongreß in Berlin 1912 von mehreren aus Leichenblut gezüchteten Stämmen, avirulenten und pseudodiphtherieartigen. Und auf dem Kongreß des Jahres 1913 berichtete Gräf, daß die Diphtheriebacillen, die offenbar durch das Körperinnere gewandert und dann im Urin nachgewiesen wurden, häufig so umgewandelt waren, daß sie wie Pseudodiphtheriebacillen erschienen.

Bernhardt und Paneth machten auch darauf aufmerksam, daß die Diphtheriebacillen, die in der Nase zu finden seien und dank diesem Standorte häufig und gründlich mit den Körpersäften in Beziehung kommen, viel öfter von der typischen Form abweichen.

Daß auch andere Bakterien durch den Aufenthalt im Menschenkörper verwandelt werden können, wurde auch des öfteren schon beschrieben. So züchtete Gottschlich z. B. aus Beuleneiter bei chronischer Pest avirulente Pestbacillen, die sich auch sonst von den echten Pestbacillen unterschieden.

Kruse weist darauf hin, daß die meisten „mutierenden“ Stämme der Typhus-Coli-Gruppe solche seien, die durch den menschlichen Körper durchgegangen und in den Faeces oder im Urin gefunden seien. u. a. m.

I.

Die Umformung der Diphtheriebacillen durch den Meerschweinchenkörper.

A. Verwandlungsversuche durch Einspritzung in die Blutbahn von Meerschweinchen.

Bei meinen Untersuchungen stellte ich zuerst fest, wie Römer bereits berichtet hat, daß diese von Bernhardt und Paneth berichteten Umschläge mit einiger Regelmäßigkeit bei fast allen Diphtheriestämmen, wenn auch in wechselnder Stärke, durch Einspritzung in die Blutbahn der Meerschweinchen zu erzielen sind. Sodann schloß ich auch die Möglichkeit aus, daß es sich bei der Herauszüchtung der diphtheroid gewordenen Formen um irgendwelche Verunreinigung handeln könne, indem ich eine große Reihe Tiere, die für andere Zwecke getötet waren, zu Vergleichsuntersuchungen benutzte. Es wurde diesen Tieren mit derselben Technik die Milz nach steriler Sektion entnommen und auf Loeffler-Serum ausgestrichen; niemals wuchsen auf den so behandelten Platten Diphtheroide oder sonstige diphtherieähnliche Stäbchen, auch nicht aus den Milzausstrichen von Tieren, denen einige Zeit vor der Tötung sterile Kochsalzlösung in die Blutbahn eingespritzt worden war.

Der Ausschluß einer solchen Möglichkeit ist deshalb von großer Bedeutung, da auf der Haut gesunder Meerschweinchen Pseudodiphtheriebacillen gefunden wurden. Daß die verwandelten Formen wirklich die Abkömmlinge der eingespritzten Diphtheriebacillen sind, dafür werden wir dann weiter unten noch andere Beweise kennen lernen.

Die Diphtheriestämme, die für die Umwandlungsversuche ausgewählt wurden, waren zunächst 8mal über Plattenreihen geschickt worden, und jedesmal wurde nur von einer Kolonie abgeimpft, um eine sichere reine Linie zu erhalten. Das Burrische Kulturverfahren aus einem Bacillus ist ja leider bei den Diphtheriebacillen nicht anwendbar. Wie Eisenberg festgestellt hat, ist jedoch eine 8mal wiederholte Plattenaussaat genügend für Erzielung einer „reinen Linie“. Besteht doch nur eine Wahrscheinlichkeit von 1 zu 500 Millionen, daß eine auf der 8. Platte aufkeimende Kolonie immer noch von 2 Bakterien abstamme.

Nachdem die oben schon erwähnten Vorversuche an 7 Stämmen gezeigt hatten, daß die Umwandlungen mit ziemlicher Regelmäßigkeit durch die Einspritzung in die Meerschweinchen zu erzielen sind, wurden 2 neue besonders typische Stämme auf die oben beschriebene Weise „gereinigt“. Ich möchte dabei noch bemerken, daß von jeder Platte eine Reihe von Kolonieen mikroskopisch und makroskopisch untersucht wurde und daß nie ein Unterschied festzustellen war. Die Zahl der Stämme wurde auf zwei beschränkt, um eine möglichst eingehende Prüfung der Abkömmlinge vornehmen zu können. Es entstand aus diesen Stämmen eine sehr große Anzahl neuer, die alle aufs genaueste geprüft werden mußten.

Die Bezeichnung der Stämme war nach der Einsendungsnummer im Untersuchungsamt 117 und 131 gewesen. Dieselben waren aus klinisch sicheren Diphtheriefällen herausgezüchtet. Nach 8-facher Plattenaussaat erhielten sie die Bezeichnung 117 VIII und 131 VIII. Diese stellen also sicher „reine Linien“ dar. Ich möchte gleich hier bemerken, daß diese

beiden Stämme sich bis auf den heutigen Tag bei der einfachen Umzüchtung in keiner ihrer Eigenschaften verändert haben.

Die genannten Stämme wurden nun den Meerschweinchen jedesmal in der Menge von 1 Oese in das Herz eingespritzt. Gewöhnlich starb dann das Meerschweinchen innerhalb 3—4 Tagen. Blieb es munter, so wurde es nach einer wechselnden Zahl von Tagen getötet.

Vor der Sektion wurde sodann das Meerschweinchen reichlich mit Alkohol übergossen und so zunächst einige Minuten stehen gelassen, um auf diese Weise möglichst alle Bakterien, die sich auf der Haut befanden, abzutöten. Sodann wurde nach einem Mittelbauchschnitt, ohne das Bauchfell zu eröffnen, die Haut mit keimfreien Instrumenten nach beiden Seiten weit zurückpräpariert. Sodann wurde es zunächst wiederum reichlich mit Alkohol übergossen und nach einiger Zeit durch Neigen des Sektionsbrettes die überschüssige Flüssigkeit entfernt, damit bei der nun folgenden Oeffnung der Bauchhöhle kein Alkohol hineinfließen konnte. Diese Oeffnung geschah mit neuen keimfreien Instrumenten. Mit nochmals frischen Instrumenten wurde sodann rasch die Milz erfaßt, ein Stück von ihr abgeschnitten und mit der Schnittfläche auf eine oder mehrere Loeffler-Platten getupft. Da die im folgenden beschriebenen Bakterien immer nur auf diesen Tupfflecken aufkeimten, so ist auch das ein Beweis dafür, daß dieselben wohl aus der Milz und nicht anderswoher gekommen sind.

Aus diesen Milzabstrichen wuchs nun eine ganz verschiedene Zahl von Kolonieen. Besonders im Anfang nach der ersten und auch noch nach der zweiten Meerschweinchenpassage war sie sehr groß. Nach den späteren Passagen nahm die Zahl der Kolonieen ständig ab, zum Schluß wuchs aus den Ausstrichen überhaupt nichts mehr. Es sind verschiedene Stämme oftmals wieder eingespritzt worden, ohne daß es gelang, aus dem gespritzten Tier etwas herauszuzüchten.

Bei den ersten Passagen war, wie schon gesagt, die Zahl der aufsprießenden Kolonieen sehr groß, es konnten infolgedessen aus diesen nicht alle Kolonieen untersucht werden. Die größte Zahl der herausgezüchteten Kolonieen betrug 14 Stämme; wenn dann später die Zahl, wie eben geschildert, nachließ und nur einzelne Kolonieen aufsprossen, dann wurden natürlich alle untersucht und, soweit es möglich war, weiter gezüchtet. Es muß hier gleich auf eine Eigentümlichkeit besonders der stärker veränderten Stämme hingewiesen werden. Wie auch schon Bernhardt und Paneth beobachtet haben, sind dieselben sehr oft in ihrer Wachstumskraft geschädigt, so daß das Aufsprießen der Kolonieen erst 2—3—4 Tage nach dem Ausstrich zu bemerken ist.

Um die neu erzielten Stämme nun ohne weiteres gut auseinanderhalten zu können, führte ich eine besondere Bezeichnungsweise für sie ein. Der Ausgangsstamm bekam, wie ich schon erläutert hatte, als Zeichen seiner reinen Linie die Zahl VIII. Die Stämme, die durch ein Meerschweinchen gegangen waren, wurden ganz einfach mit einem M versehen, und wenn der betreffende Stamm aus dem ersten Versuchstier herausgezüchtet worden war, so bekam er dazu noch die Zahl I. Wurden nun aus demselben Tiere verschiedene Stämme herausgezüchtet, so wurden diese mit arabischen Ziffern 1, 2 etc. versehen. Beispiel: Von dem Stamm 117 wurden aus dem ersten Versuchstier 2 Stämme herausgezüchtet; dieselben erhielten die Bezeichnung: 117 M I 1 und 117 M I 2 (vgl. die nachstehende Stammbaumtafel II). Bei der zweiten Meerschweinchenpassage wurde diese Herkunft durch die römische II

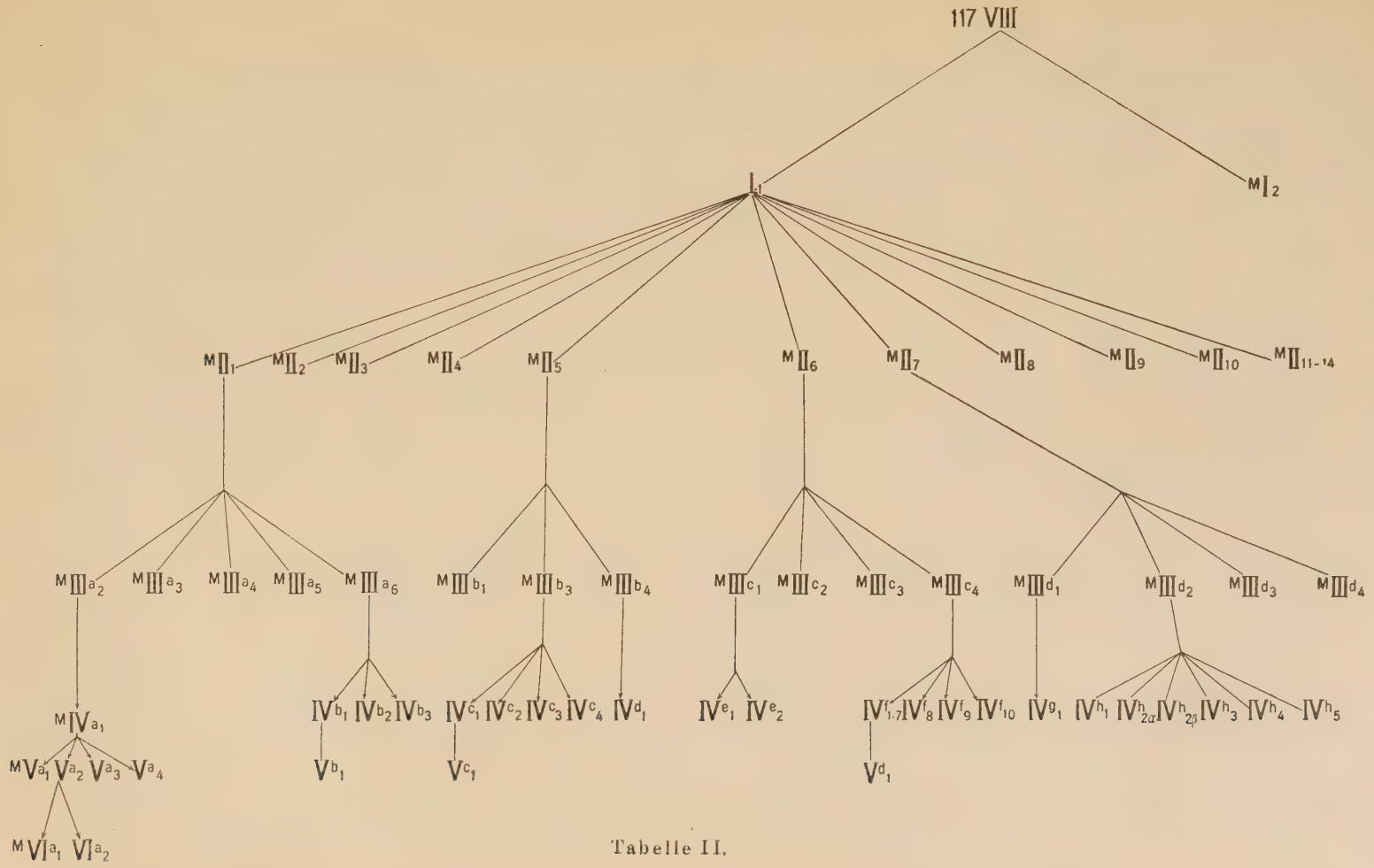

117 VIII
I1
MI2
MII1
MII2
MII3
MII4
MII5
MII6
MII7
MII8
MII9
MII10
MII11-14
MIIIa2
MIIIa3
MIIIa4
MIIIa5
MIIIa6
MIIIb1
MIIIb3
MIIIb4
MIIIc1
MIIIc2
MIIIc3
MIIIc4
MIIId1
MIIId2
MIIId3
MIIId4
MIVa1
IVb1 IVb2 IVb3
IVc1 IVc2 IVc3 IVc4 IVd1
IVe1 IVe2
IVf1-7 IVf8 IVf9 IVf10
IVg1
IVh1 IVh2α IVh2β IVh3 IVh4 IVh5
MVa1 Va2 Va3 Va4
Vb1
Vc1
Vd1
MVIa1 VIa2

Tabelle II.

ausgedrückt, so daß die 14 aus der zweiten Meerschweinchenpassage herausgezüchteten Stämme die Bezeichnung 117 M II 1—14 erhielten. Noch schwieriger wird die Bezeichnung jedoch von der dritten Passage ab. Ich begnügte mich nicht damit, von den aus der zweiten Passage herausgezüchteten 14 Stämmen nur einen wieder einem Meerschweinchen einzuspritzen, sondern ich spritzte von diesen M II-Stämmen wieder vier ein. Um nun die daraus gewonnenen M III-Stämme auseinanderhalten zu können, unterschied ich die verschiedenen M III-Gruppen nun mittels kleiner Buchstaben des Alphabetes. So erhielten die aus dem Stamm 117 M II 1 hervorgegangenen Stämme die Bezeichnung 117 M III a 2—6. 117 M III a 1 wurde nicht weiter berücksichtigt, da die auf diese Weise

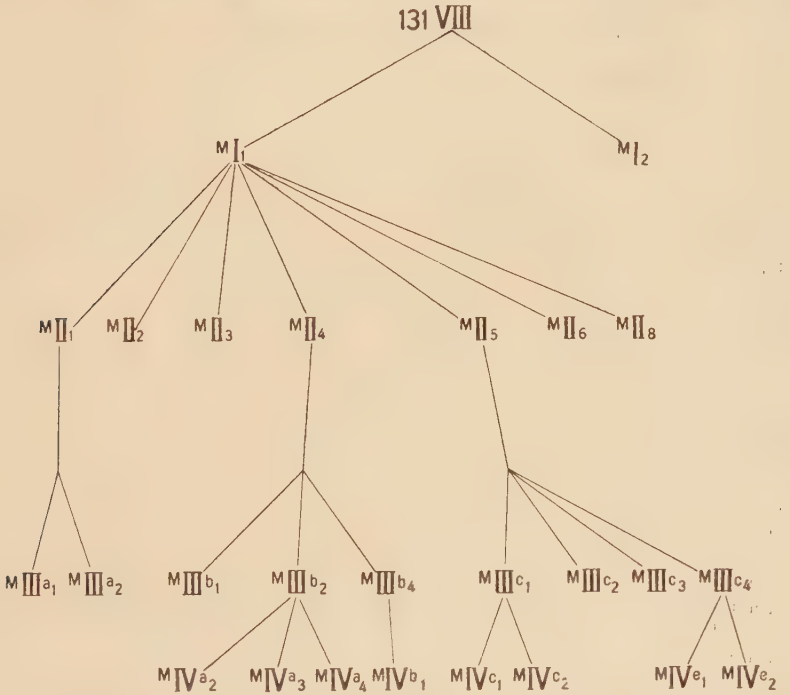


Tabelle III.

bezeichnete Kolonie eine Kokkenverunreinigung der Platte gewesen war. Es wurden nämlich immer die Kolonieen zuerst mit der neuen Bezeichnung versehen und dann dieselbe im mikroskopischen Präparate untersucht. Erwies sich dann, was nur selten vorkam, eine Kolonie als zufällige Verunreinigung (Kokken), so wurde sie als nicht bestehend gelöscht und selbstredend auch nicht weiter gezüchtet. Die Stämme, die aus dem Stamm 117 M II 5 hervorgingen, bekamen die Bezeichnung 117 M III b 1—4 und so fort. In der gleichen Weise wurde in der vierten, fünften und sechsten Passage die Bezeichnung durchgeführt. Es ist also an dieser Bezeichnung auf den ersten Blick folgendes zu sehen: die römische Ziffer gibt die Zahl der Meerschweinchen an, durch die der Stamm durchgegangen ist, und alle Stämme, die die gleiche römische Zahl und den gleichen Buchstaben besitzen, sind aus demselben Meerschweinchen herausgezüchtet, gehören also zu einer engeren Gruppe zusammen.

Tabelle IV. In-

Spalte a: s. l. s. sehr lang schlank
ml. mittellang
k. pl. kurz plump
kl. klumpend

Spalte b: ++ sehr gut (positiv)
+ gut (positiv)
± nur kleine Anzahl positiv. auch atypisch (zweifelhaft)
0 ganz negativ

Nummer der Stämme	Abstammung	a) Aussehen (Form und Lagerung)		b) Neisser-Färbung
		bei der 1. Züchtung	bei späteren Züchtungen	
117 Pass. VIII	117	s. l. s.	immer das gleiche Verhalten	++
117 M I 1	117 VIII	l. s.	„	++
117 M I 2	117 VIII	ml. k. pl.	s. k. pl.	0
117 M II 1	117 M I 1	l. s.	. . . . .	+
117 M II 2	„	„	. . . . .	+
117 M II 3	„	„	. . . . .	+
117 M II 4	„	ml. pl. u. k.	ab 2. Zt. s. l. s.	+
117 M II 5	„	„	„	±
117 M II 6	„	„	„	0 später ++
117 M II 7	„	l. s.	. . . . .	„
117 M II 8	„	„	. . . . .	. . . . .
117 M II 9	„	„	. . . . .	0
117 M II 10	„	„	. . . . .	+
117 M II 11	„	„	. . . . .	+
117 M II 12	„	„	. . . . .	+
117 M II 13	„	„	. . . . .	+
117 M II 14	„	„	. . . . .	+
117 M III a 2	117 M II 1	„	. . . . .	++
117 M III a 3	„	„	. . . . .	+
117 M III a 4	„	„	. . . . .	+
117 M III a 5	„	„	. . . . .	+
117 M III a 6	„	„	. . . . .	++
117 M III b 1	117 M II 5	„	. . . . .	±
117 M III b 3	„	„	. . . . .	±
117 M III b 4	„	„	. . . . .	+
117 M III c 1	117 M II 6	„	. . . . .	+
117 M III c 2	„	„	. . . . .	+
117 M III c 3	„	„	. . . . .	+
117 M III c 4	„	„	. . . . .	± später +
117 M III d 1	117 M II 7	k. pl.	s. k. pl. klumpig	+ atyp.
117 M III d 2	„	l. s.	. . . . .	0 später +
117 M III d 3	„	„	. . . . .	±
117 M III d 4	117 M II 7	„	. . . . .	0 später ++
117 M IV a 1	117 M III a 2	s. l. s. etwas starr	. . . . .	1. Zt. ±, später ganz 0, nach 8 Monat. 0, nach 11 Mon. + atyp.

jektionsstämme 117.

Spalte c: ++ sehr gutes Wachstum
+ gutes Wachstum
+ mäßiges Wachstum } negativ
± spärliches Wachstum
0 kein Wachstum

Spalte d: hr. tr. hellrot trüb
mr. tr. mittelrot trüb
unv. kl. unverändert klar

Spalte e und g siehe Text

c) Wachstum in tiefem Agarstich	d) Verhalt. im Thiel-schen Nährboden	e) Virulenz intrakutan $^1/_{10}$ Oese	e) Virulenz intrakutan 1 Oese	f) Bemerkungen	g Also atypisch in den Punkten:	g Typisch in . . . Punkten
++	48 St. hr. tr.	N	.	. . . . .	—	5
++	„	N	.	. . . . .	—	5
++	etwas ger. 5 Tage	0	0	. . . . .	m n s/2 v	1 1/2
++	48 St. hr. tr.	N	.	. . . . .	—	5
++	„	ri	N	. . . . .	—	5
++	„	N	.	. . . . .	—	5
++	„	ri n	.	. . . . .	—	5
++	„	N	.	. . . . .	(n?)	5 (4?)
0 spät. ++	„	ri	ri †	. . . . .	anf. n t m/2, spät. —	anf. 2 1/2, spät. 5
+	„	0	ri †	. . . . .	anf. n?, spät. —	anf. 4, spät. 5
. . .	.	.	.	schlechtes Wachstum, schließlich 0	. . . . .	.
. . .	.	n	.	dgl.	. . . . .	.
++	48 St. hr. tr.	N	.	. . . . .	n?	4—5
. . .	.	N	.	nicht weiter gezüchtet	. . . . .	.
. . .	.	N	.	dgl.	. . . . .	.
. . .	.	N	.	„	. . . . .	.
. . .	.	N	.	„	. . . . .	.
+	48 St. hr. tr.	N	.	. . . . .	t?	4—5
+	„	Qn	.	. . . . .	t?	4—5
++	3 Tage hr. tr.	Qn	.	. . . . .	—	5
++	48 St. hr. tr.	Qn	.	. . . . .	—	5
+ später +	„	qn	.	. . . . .	anf. t?, spät. —	anf. 4, spät. 5
+	„	N	.	. . . . .	n?	4—5
0 später ++	„	0	N	. . . . .	anf. n? t?, spät. n?	anf. 3—4, spät. 4—5
+	„	N	.	. . . . .	t?	4—5
+	24 St. hr. tr.	N	.	. . . . .	t?	4—5
++	„	n	.	. . . . .	—	5
+	„	n	.	. . . . .	—	5
++	„	n	.	. . . . .	anf. n?, spät. —	anf. 4, spät. 5
0	48 St.	0	0	. . . . .	m n/2 t v	1 1/2
+	„	N	.	. . . . .	anf. n (t?), spät. t?	anf. 3—4, spät. 4—5
++	3 Tage hr. tr.	n	.	. . . . .	n?	4—5
+	„	i	N	. . . . .	anf. n (t?), spät. t?	anf. 3—4, spät. 4—5
++	48 St. hr. tr.	N	.	trotz großer Virulenz monatelang beharrlich Neisser —	n	4

Tabelle IV

Nummer der Stämme	Abstammung	a) Aussehen (Form und Lagerung)		b) Neisser-Färbung
		bei der 1. Züchtung	bei späteren Züchtungen	
117 M IV b 1	117 M III a 6	l. s.	. . . . .	++
117 M IV b 2	„	l. p. enorme Degenerationsform. Verzweigungen	. . . . .	+
117 M IV b 3	„	l. starr	2. Zt. Lager. typ, Form atyp., nach 1 Jahr sehr pl. klump., etwas gequollen (Kürbisform)	1. Zt. 0, später atyp. voll. ausfüllend
117 M IV c 1	117 M III b 3	l. ml.	2. Zt. kürzer. Parallellagerung	0 später + atyp.
117 M IV c 2	„	l. s.	2. Zt. kürzer, klump.	± atyp.
117 M IV c 3	„	k. pl. parall. stark klumpend	. . . . .	± atyp.
117 M IV c 4	„	k. pl.	2. Zt. u. spätere ganz kurz, fast kokkenf.	+ atyp. voll.
117 M IV d 1	117 M III b 4	„	kl.	± atyp.
117 M IV e 1	117 M III c 1	l. s.	später s. k., stark kl.	± „
117 M IV e 2	„	l. p. u. mlp.	später k. pl., Spindelformen	± „
117 M IV f 1	117 M III c 4	l. s.	. . . . .	++
117 M IV f 2	„	„	. . . . .	++
117 M IV f 3	„	„	. . . . .	++
117 M IV f 4	„	„	. . . . .	++
117 M IV f 5	„	„	. . . . .	++
117 M IV f 6	„	„	. . . . .	++
117 M IV f 7	„	„	. . . . .	++
117 M IV f 8	„	ml.	2. Zt. kürzer pl. parallel, 1 Jahr ml. u. k.	± atyp.
117 M IV f 9	„	l. s. klump.	2. Zt. ml. u. kurz, 1 Jahr s. k. pl., sehr stark kl.	0
117 M IV f 10	„	l. s.	. . . . .	0
117 M IV g 1	117 M III d 1	„	2. Zt. k. pl. parallel, 3. Zt. sehr kurz	± atyp.
117 M IV h 1	117 M III d 2	l. u. k.	2. Zt. k. parallel, 3. Zt. sehr kurz, ebenso 1 Jahr	± „
117 M IV h 2 α	„	s. k. pl.	. . . . .	± „
117 M IV h 2 β	„	k. u. läng. Form	nach 1 Jahr s. pl., stark kl.	± „
117 M IV h 3	„	ml. u. k. parallel.	2. Zt. s. pl. kl., 1 Jahr s. klein	+ atyp.
117 M IV h 4	„	s. l. Degenerat.	von 2. Zt. ab immer kürzer	0 nach 1 J. ±
117 M IV h 5	„	l. u. k.	s. k. pl.	0 nach 1 J. + atyp.
117 M V a 1	117 M IV a 1	l. schlank.	. . . . .	± später +
117 M V a 2	„	l. s.	. . . . .	0 später +
117 M V a 3	„	ml. pl. kl.	s. pl.	+ atyp.

(Fortsetzung).

c) Wachstum in tiefem Agarstich	d) Verhalt. im Thiel-schen Nährboden	e) Virulenz intrakutan		f) Bemerkungen	g)	
		1/10 Oese	1 Oese		Also atypisch in den Punkten	Typisch in . . . Punkten
+	48 St. hr. tr.	N	.	schlechtes Wachstum, schließlich 0	—	5
+	10 Tage unveränd.	.	0	. . . . .	t s v	2
++	„	0	0	. . . . .	t n/2 s v	1 1/2
++	48 St. hr. tr.	0	0	. . . . .	m/2 n/2 v	2 2/2
++	3 Tage hr. tr.	0	0	. . . . .	m/2 n/2 v	2 2/2
+	48 St. hr. tr.	0	0	. . . . .	m n/2 v	2 1/2
++	3 Tage hr. tr.	0	0	. . . . .	m n/2 v	2 1/2
+	48 St. hr. tr.	0	0	schlechtes Wachstum, schließlich 0	m n/2 v	2 1/2
±	10 Tage unveränd.	0	0	. . . . .	m n/2 t s v	1/2
+	„	0	0	. . . . .	anf. n/2 s v, spät. noch m	anf. 2 1/2, spät. 1 1/2
++	3 Tage hr. tr.	n	.	. . . . .	—	5
++	48 St. hr. tr.	Ri †	.	. . . . .	—	5
+	„	n	.	. . . . .	—	5
++	„	n	.	. . . . .	—	5
++	„	n	.	. . . . .	—	5
++	3 Tage hr. tr.	n	.	. . . . .	—	5
++	„	n	.	. . . . .	—	5
+	10 Tage unveränd.	0	0	. . . . .	m/2 n/2 s v	1 2/2
0	„	0	0	. . . . .	anf. n t s v, spät. noch m	anf. 1, spät. 0
0	„	0	0	schlechtes Wachstum, schließlich 0 nach einigen Monaten	n t s v	1
—	—	—	—	Stamm n. d. 3. Züchtung eingegangen	. . . . .	. . . . .
+	10 Tage unveränd.	0	0	. . . . .	anf. m/2 n/2 s v, spät. m	anf. 1 2/2, spät. 1 1/2
+	„	0	0	. . . . .	m n/2 s v	1 1/2
+	„	0	0	. . . . .	m n/2 s v	1 1/2
+	„	0	0	. . . . .	m n/2 s v	1 1/2
+	„	0	0	. . . . .	anf. n s v, sp. noch n/2 m	anf. 2, spät. 1 1/2
+	„	0	0	. . . . .	anf. n s v, spät. m n/2	„ 2, „ 1 1/2
++	48 St. hr. tr.	n	.	. . . . .	anf. n/2, spät. —	anf. 4 1/2, spät. 5
++	„	ri †	.	. . . . .	anf. n, spät. —	anf. 4, spät. 5
++	10 Tage unveränd.	0	0	nach einigen Monaten eingegangen	m n/2 s v	1 1/2

Tabelle IV

Nummer der Stämme	Abstammung	a) Aussehen (Form und Lagerung)		b) Neisser-Färbung
		bei der 1. Züchtung	bei späteren Züchtungen	
117 M V a 4	117 M IV a 1	k. pl.	. . . . .	± atyp.
117 M V b 1	117 M IV b 1	Enorme Degener.-Kolben	ml. parallel gelagert, kl.	± atyp.
117 M V c 1	117 M IV c 1	„	2. Zt. pl. aufgetrieben, 1 Jahr geblähte „Kürbisformen“	ganz enorm große, stark färbb. Körner
117 M V d 1	117 M IV f 1	l.	von 2. Zt. ab immer kürzer u. plumper	0
117 M VI a 1	117 M V a 2	ml. pl.	2. Zt. dgl. Spindelformen u. kurze, nach 1 Jahr l. s.	0
117 M VI a 2	„	ml. pl. u. k.	2. Zt. k. pl. parallel, 1 Jahr l. s.	+ atyp.

Zur besseren Veranschaulichung dieser Verhältnisse verweise ich nochmals auf die vorstehenden zwei Stammbaumtafeln (Tabelle II und III) der Stämme 117 und 131. In der nächsten großen Tabelle IV sind sodann die Prüfungsergebnisse des Stammes 117 und seiner Abkömmlinge zusammengestellt. Das gleiche findet sich in der Tabelle V für die Stämme 131. Zu der Methodik der Untersuchung sei noch mitgeteilt, daß die meisten Prüfungen mehreremal ausgeführt sind. Sofort bei der Abimpfung der Ursprungskolonie wurden Form und Lagerung, bei der ersten Reinkultur nach 24 Stunden nochmals Form und Lagerung sowie der Ausfall der Neisser-Färbung beurteilt[1]). Beide Prüfungen wurden je nach der Art des betreffenden Stammes zu den verschiedensten Zeiten wiederholt. Sobald eine gute Reinkultur vorhanden war, wurde nun sowohl der Thielsche Nährboden beimpft wie der Agarstich ausgeführt. Verhielt sich in einer dieser Prüfungen das Bakterium irgendwie zweifelhaft, so wurde die Prüfung ein- bis mehreremal wiederholt. Wenn es dabei vorkam, daß die erste Prüfung im Thielschen Nährboden oder im Agarstich negativ ausgefallen war, die zweite unmittelbar darauf angestellte jedoch sofort stark positiv ausfiel, so wurde die erste Prüfung vernachlässigt. Ein Rückschlag wurde erst dann angenommen, wenn eine Reihe von Wiederholungen ein eindeutig negatives oder zweifelhaftes Resultat ergaben, dieselbe Prüfung in späterer Zeit jedoch positiv ausfiel. Gleichzeitig mit allen diesen Prüfungen wurde sodann die Virulenz festgestellt und zwar in der Weise, die ich bereits in meiner oben erwähnten Arbeit als die beste erkannt hatte. Die Stämme wurden in der Menge $^1/_{10}$ Oese in 0,1 ccm Kochsalzlösung in die Haut eingespritzt. War diese Prüfung erfolglos, so wurde die zehnfach größere Menge, 1 Oese Bakterien, in der gleichen Weise einem frischen Tier in die Haut eingespritzt. War auch diese Prüfung ergebnislos, so wurde sie gegebenenfalls nochmals wiederholt. Weitere Prüfungen mit großen Mengen Bouillonkulturfiltraten wurden nicht vorgenommen, weil ich die Erfahrung gemacht hatte, daß solche Stämme, die nach Einspritzung einer Oese

1) Alle Prüfungen der Morphologie und Färbbarkeit wurden an 24-stündigen Kulturen auf Löffler-Serum vorgenommen. Zur Weiterzüchtung und Aufbewahrung wurde jeder Stamm auf Glyzerinagar gebracht.

(Fortsetzung).

c) Wachstum in tiefem Agarstich	d) Verhalt. im Thiel-schen Nährboden	e) Virulenz intrakutan $^1/_{10}$ Oese	e) Virulenz intrakutan 1 Oese	f) Bemerkungen	g) Also atypisch in den Punkten	g) Typisch in . . . Punkten
++	48 St. hr. tr.	0	0	nach einigen Monaten eingegangen	m n/2 v	$2^1/_2$
+	10 Tage mr. klar	0	0	. . . . .	anf. n/2 t/2 s v, spät. noch m/2	anf. $^2/_2$, spät. $^3/_2$
+	10 Tage mr. trüb	0	0	. . . . .	anf. n/2 t/2 s v, spät. noch m/2	anf. $1^2/_2$, spät. $^3/_2$
0	10 Tage unveränd.	0	0	. . . . .	anf. m/2 n t s v, spät. noch m	anf. $^1/_2$, spät. 0
+	„	0	0	. . . . .	anf. m n t/2 s v, spät. n t/2 s v	anf. $^1/_2$, spät. $1^1/_2$
+ später +	10 Tage mr. trüb	0	0	. . . . .	anf. m n/2 s v, spät. n/2 t/2 s v	anf. $1^1/_2$, spät. $1^2/_2$

in die Haut keine Reaktion auslösten, auch bei der Filtratprüfung versagten. Die auf die Hauteinspritzung beobachteten Reaktionen sind folgende:

0 = nichts, r = kleine Rötung, ri = kleine Rötung, kleines Infiltrat; diese drei Befunde wurdeu als negativ angenommen; q = kleine Quaddel, n = kleine Nekrose, Q = große Quaddel, N = große Nekrose, † Tod; diese Befunde wurden als positiv betrachtet. Dabei ist zu bemerken, daß, wenn ein kleines q beobachtet wurde, sich daran regelmäßig ein kleines n anschließt, dasselbe Verhältnis besteht gewöhnlich zwischen Q und N.

Wie gesagt, wurden die neu erhaltenen Stämme immer von einzelnen Kolonieen abgeimpft; da die erste mikroskopische Untersuchung nie eine Anwesenheit von zwei verschiedenen Bakterienarten in der einen Kolonie ergab, so glaube ich, daß wohl alle erhaltenen neuen Stämme als reine Linien anzusehen sind. Streng genommen müßte ja auch hier eigentlich jedesmal mit Hilfe des Plattensatzes jede Linie neu gereinigt werden, jedoch war das bei der außerordentlich geringen Wachstumsstärke der Stämme im Anfang häufig nicht gut möglich. Auch zur Beobachtung der Rückschläge wäre es eigentlich wünschenswert, von Zeit zu Zeit die einzelnen Glieder einer solchen Kultur durch Plattenaussaat und Abimpfung von Einzelkolonieen zu prüfen, jedoch würde dadurch das Arbeitsmaß für die Prüfung der sich ins Ungemessene steigernden Zahl der Bakterien in nicht zu bewältigender Weise vergrößert worden sein. Es ist wohl zu wünschen, daß für das eine oder andere Bakterium eine solche Prüfung einmal durchgeführt wird; mir kam es jedoch darauf an, eine möglichst große Zahl von einzelnen Stämmen ganz durchgeprüft zu haben und ihre Eigenschaften festzulegen. Ich begnügte mich deshalb damit, die aus den Löffler-Platten herausgezüchteten Stämme als reine Linien zu betrachten und sie je nach ihrer Eigenschaft mehr oder minder oft auf ihre Unveränderlichkeit zu prüfen.

Wenn wir nun die Prüfungsergebnisse der verschiedenen Abkömmlinge der Stämme 117 und 131 zunächst einmal einzeln besprechen, so läßt sich ganz allgemein beobachten, daß die verschiedenen Stämme in allen 5 Prüfungen ein untereinander außerordentlich wechselndes Verhalten erkennen lassen.

Tabelle V. In-

No. des Stammes	Abstammung	a) Aussehen (Form und Lagerung)		b) Neisser-Färbung
		bei der 1. Züchtung	bei späteren Züchtungen	
131 (Pass. VIII)	131	l. s.	. . . . .	++
131 M I 1	131 VIII	l. s.	. . . . .	++
131 M I 2	„	l. s.	. . . . .	++
131 M II 1	131 M I 1	ziemlich kurze Formen, etwas plump	l. s.	1. Zt. 0 folg. ++
131 M II 2	„	l. s.	. . . . .	± „ ++
131 M II 3	„	l. s.	. . . . .	0 „ ++
131 M II 4	„	l. s.	. . . . .	+
131 M II 5	„	l. s.	. . . . .	++
131 M II 6	„	ml. u. k, später l. s.	. . . . .	++
131 M II 8	„	ml. s.	. . . . .	++
131 M III a 1	131 M II 1	z. k. pl. parallel	im wesentl. dasselbe, klumpend	0
131 M III a 2	„	z. k. pl.	klumpig sonst dasselbe	0
131 M III b 1	131 M II 4	k. pl. u. ml.	sehr k. pl. klumpig	0
131 M III b 2	„	l. s.	. . . . .	+
131 M III b 4	„	l. s.	. . . . .	++
131 M III c 1	131 M II 5	l. s.	. . . . .	++
131 M III c 2	„	l. s.	. . . . .	++
131 M III c 3	„	l. s.	. . . . .	++
131 M III c 4	„	l. s.	. . . . .	+
131 M IV a 2	131 M III b 2	k. pl. klumpig	2. Zt. noch kürzer, später länger	0
131 M IV a 3	„	l. s.	k. pl. am Schluß länger	0
131 M IV a 4	„	l. pl. Spindelform	sehr k. pl., später wied. aufgetriebene pl. Form	0
131 M IV b 1	131 M III b 4	l. s.	. . . . .	.
131 M IV c 1	131 M III c 1	k. pl.	. . . . .	0
131 M IV c 2	„	l. s.	. . . . .	0
131 M IV e 1	131 M III c 4	l. s. u. k. p.	2. Zt. nur k. u. pl., klumpig	± atypisch
131 M IV e 2	„	ml. u. k. pl.	2. Zt. Degenerat. Keulen und viele kurze	± „

Tiefer Agarstich. Bei anaëroben Verhältnissen finden wir Uebergänge vom besten Wachstum bis zum schlechtesten, ja auch Rückschläge von 0 zu ++ oder von + zu + wurden beobachtet, einmal auch eine Veränderung des guten Wachstums zum schlechten (117 M VI a 2).

Prüfung im Thielschen Nährboden. Auch bei der Prüfung

jektionsstämme 131.

c) Wachstum im tiefen Agarstich	d) Verhalten im Thielschen Nährboden	e) Virulenz intrakutan $^1/_{10}$ Oese	e) Virulenz intrakutan 1 Oese	f) Bemerkungen	g) Also atypisch in den Punkten	g) Typisch in ... Punkten
++	48 St. hr. tr.	N	.	. . . .	—	5
++	„	N	.	. . . .	—	5
++	„	ri n	.	. . . .	—	5
++	24 St. hr. tr.	N	.	. . . .	anf. m n, später —	anf. 3, später 5
++	„	RQn	.	. . . .	„ n/2 „ —	„ $4^1/_2$ „ 5
++	„	ri	N	. . . .	„ n „ —	„ 4 „ 5
+	„	ri	N	. . . .	—	5
++	„	0	N	. . . .	—	5
++	„	ri	N	. . . .	anf. m, später —	anf. 4, später 5
+	„	RI n	.	. . . .	—	5
±	48 St. hr. tr.	0	0	. . . .	m n t v	1
0	5 Tage hr. tr.	0	0	. . . .	m n t v	1
±	.	0	0	sehr schlechtes Wachstum, schließlich 0	—	.
++	24 St. hr. tr.	N	.	. . . .	—	5
+	48 St. hr. tr.	ri	ri Q	. . . .	—	5
+	24 St. hr. tr.	ri n	.	. . . .	—	5
+	„	0	ri	. . . .	(v?)	4
+	„	Ri Q	.	. . . .	—	5
++	„	0	ri Q	. . . .	—	5
+	10 T. unverändert	0	0	. . . .	m n s v	1
+	„	0	0	. . . .	anf. n s v, sp. noch m	1
+	„	0	0	. . . .	m n s v	1
.	.	.	.	Stamm sofort eingegangen	.	.
±	„	0	0	. . . .	m n t s v	0
++	24 St. hr. tr.	0	ri 0	eingegangen	n v	3
0	5 Tage mr. tr.	0	0	. . . .	anf. m/2 n/2 t s v, später m	anf. 3/2, später 2/2
++	2 Tage hr. tr.	0	0	. . . .	m n/2 v	$2^1/_2$

im Thielschen Nährboden finden wir alle Uebergänge. Die Ausgangsstämme 117 VIII und 131 VIII veränderten den Thielschen Nährboden innerhalb 48 Stunden so, daß er hellrot und trüb wurde. Wir sehen nun, daß einige Stämme offenbar eine Steigerung der Säurebildung erfahren haben, z. B. die Stämme 117 M III c, ferner die Stämme 131 M III c; noch einige andere haben die Eigenschaft erhalten, dieselbe

Säuremenge bereits nach 24 Stunden hervorzurufen. Bei anderen wieder ist die Säurebildung verzögert, tritt erst nach 3 Tagen oder nach 5 Tagen auf, manchmal ist sie nach 5 Tagen auch erst angedeutet und verstärkt sich auch nicht weiter, schließlich kann sie sogar erst nach 10 Tagen, wenn auch stark abgeschwächt, auftreten. So wird z. B. bei 117 M V b 1 der Thielsche Nährboden erst nach 10 Tagen eine Spur gerötet, bleibt aber klar, während bei 117 M VI a 2 zur selben Zeit eine geringe Rötung besteht, die aber noch mit einer Trübung verbunden ist. Die letzte Gruppe läßt auch nach 10 Tagen den Thielschen Nährboden vollkommen unverändert.

Virulenz. Auch die Virulenzprüfung zeigt starke Verschiedenheiten. Die normale Virulenz der Stämme 117 und 131 zeigte sich in Hervorrufung einer großen Nekrose auf die intrakutane Einspritzung von $^1/_{10}$ Oese Bacillen. Andere Stämme, die sich sonst fast unverändert zeigten, hatten trotzdem eine größere oder kleinere Einbuße ihrer Virulenz erlitten. Ferner ist bemerkenswert, daß fast alle Stämme, die die Virulenz vollkommen verloren haben, gewöhnlich auch in anderer Beziehung eine Einbuße hatten.

Neisser-Färbung[1]) (im allgemeinen). Auch diese ist bei den einzelnen Bakterien außerordentlich verschieden. Auch hier ließen sich Uebergänge von der stark positiven typischen bis zur vollkommen negativen nachweisen. Aber auch ganz atypische Formen, große, gut und schlecht färbbare Klumpen, ferner ganz kleine feine Körnchen wurden beobachtet. Besonders auffallend war jedoch, daß bei einzelnen Bakterien, die in ihrer Form und Lagerung vollkommen diphtheroid geworden waren, nun nicht etwa auch die Neisser-Färbung einfach fehlte (solches kam natürlich auch vor), sondern daß bei einzelnen die Neisser-Färbung nun so stark hervortrat, daß der ganze Bacillus sich trotz kräftiger Gegenfärbung in der Blaufärbung zeigte. Es war also der ganze Bacillus Neisser-positiv geworden. Das Nähere über die Neisser-Färbung soll weiter unten bei der Besprechung der Photographieen erwähnt werden. Hier nur soviel, daß die genannten Uebergänge, sowie die Rückschläge die Beurteilung außerordentlich erschwerten.

Form und Lagerung[1]) (im allgemeinen). Auch da zeigten sich alle Uebergänge. Lange schlanke, lange plumpe, mittellange schlanke, mittellange plumpe, kurze, kurze und plumpe Bacillen, starre Formen, gebogene Formen, typische V-Lagerung, Gruppenlagerung, Radspeichenlagerung, Parallellagerung. Alle diese Formen konnten in den verschiedensten Zusammenstellungen beobachtet werden. Ganz besonders auffallend war jedoch die Tatsache, daß eine große Anzahl der veränderten Stämme die merkwürdige Eigenschaft erwarb, nun stark aneinander zu klumpen; dieselben hatten gewöhnlich auf der Loeffler-Platte bereits ein trockenes Wachstum und waren schwer abzulösen, auch wuchsen sie schlecht und langsam. Die Klumpung war bei verschiedenen Stämmen so stark, daß es bei ihnen mit dem besten Willen nicht möglich war, im Präparate das einzelne Bakterium zu betrachten, sondern daß sie alle sich nur in dicken Klumpen aufgehäuft im Gesichtsfeld zeigten. Das Nähere auch über diese Form soll weiter unten bei der Besprechung der Photographieen erfolgen, und es sollen dann die einzelnen Bakterien, die sich besonders merkwürdig verhielten, genauer durchgesprochen werden.

1) Siehe Anm. auf S. 18.

Zunächst jedoch sei auf einiges Bemerkenswerte in der Tabelle selbst verwiesen. Wie ich schon oben hervorgehoben und wie es das Ziel meiner Untersuchung im Jahre 1913 gewesen war, ist es von Wichtigkeit, Formen zu finden, die zwar in einem oder mehreren Punkten sich atypisch verhalten, jedoch dabei noch Virulenz besitzen. Von der Mehrzahl dieser Bakterien wird weiter unten bei der zusammenfassenden Darstellung zu sprechen sein. Einer verdient es, bereits jetzt hier besonders erwähnt zu werden. Das ist der Stamm 117 M IV a 1. Derselbe war eigentlich in allen Punkten typisch, auch vollkommen virulent, jedoch in einem Punkte, in der Neisser-Färbung, verhielt er sich ziemlich stark abweichend. Bei der Herauszüchtung war die Neisser-Färbung sehr schwach, also zweifelhaft und wurde sodann vollkommen null, obwohl zur selben Zeit der Bacillus starke Virulenz darbot. Dieses Verhalten behielt er fast ein ganzes Jahr; bei mehrfachen Prüfungen wurden dieselben folgendermaßen ausgeführt: es wurde von einem frischen Kulturröhrchen nach 24-stündigem Wachstum ein Präparat nach Neisser angefertigt. Auf demselben Objektträger befand sich zum Vergleich ein typischer Diphtheriebacillus, dessen Neisser-Färbung immer positiv ausfiel. Es wurde sodann regelmäßig beobachtet, daß der Stamm 117 M IV a 1 sich gegen die Neisser-Färbung ablehnend verhielt. Sodann wurde sofort mit dem gleichen Material ein Meerschweinchen intrakutan geimpft und stets mit Erfolg. Erst nach ungefähr einem Jahre wurde derselbe Stamm etwas Neisser-positiv, jedoch verhielten sich auch da die Körnchen nicht ganz typisch und waren spärlich. Es ist bemerkenswert, daß die Abkömmlinge dieses Bacillus, die Stämme M V a 1—4, ebenfalls alle sich gegen die Neisser-Färbung atypisch verhielten. Zwei von diesen waren virulent, a 1 und a 2; beide wurden später Neisser-positiv, die beiden anderen waren avirulent. Die von dem Stamm M V a 2 abstammenden Stämme M VI a 1 und a 2 gehören wiederum zu den Merkwürdigkeiten des ganzen Versuches; denn hier finden wir bei ziemlich weitgehender allgemeiner Abänderung noch Rückschläge in der Morphologie. Hiervon unten mehr.

Morphologisches Verhalten und Neisser-Färbung bei den einzelnen Stämmen. Besprechung der Photographieen [1]).

Das Hauptgewicht der Beobachtung der veränderten Stämme lag ja nun natürlich in der Feststellung der Gestalt und der Färbbarkeit; haben wir doch hier bei den Diphtheriebacillen einen Vorsprung vor den übrigen Bakterien, z. B. bei der Coli-Gruppe. Bei der typischen Gestalt des Diphtheriebacillus lassen sich selbst geringe Veränderungen mit leichter Mühe feststellen. Ich beabsichtige nun nicht, jedes einzelne der in den Tabellen zusammengestellten Bakterien hier genau durchzusprechen, sondern ich möchte mich darauf beschränken, diejenigen zu behandeln, die ich auf den beigegebenen Tafeln photographisch abgebildet habe. Zugleich treten wir hiermit in die Behandlung einer Erscheinung ein, die uns in verschiedener Beziehung außerordentlich wertvoll ist. Wir haben schon oben gesehen, daß auch bei der Kulturprüfung, z. B. beim Wachstum im tiefen Agarstich, Veränderungen des Verhaltens nach der Herauszüchtung im Laufe der Zeit eintreten können.

1) Siehe Anm. S. 18. Auch die Photographieen sind alle nach Präparaten von 24-stündigen Serumkulturen angefertigt.

Wir sahen, daß diese Rückschläge bei der Kulturprüfung nur unvollkommen bemerkt werden können, weil man nicht ausschließen kann, daß das Ausbleiben einer Reaktion im Anfang nicht auf andere Gründe, z. B. geringe Wachstumsstärke, zurückzuführen ist. Anders bei der morphologischen Prüfung. Hier erhalten wir feste Bilder, die wir in Form des Originalpräparates aufbewahren können, um sie zu gelegener Zeit mit den darauffolgenden Bildern zu vergleichen.

Bei der sorgfältigen Prüfung dieser Verhältnisse stellte sich nun die beachtenswerte Tatsache heraus, daß durchaus nicht etwa die betreffenden veränderten Bakterien, die nach der Herauszüchtung aus dem Tierkörper eine neue Gestalt gewonnen hatten, dieselbe nun dauernd beibehielten, sondern es zeigte sich, daß diese Gestalt sich eigentlich bei den meisten in den Kulturen noch weiterhin veränderte, und zwar meistens in fortschreitender Richtung, d. h. nachdem einmal die lange typische Gestalt des Diphtheriebacillus zum Teil abhanden gekommen war, veränderten sich die Bakterien immer weiter bis zu äußerst kurzen, fast kokkenartigen Gebilden. Manchmal erfolgt dann noch ein mehr oder minder großer Rückschlag. Aber auch die Rückschläge in umgekehrter Richtung wieder zum Typischen hin wurden nicht vermißt. Besonders wenn die Veränderung nach der Herauszüchtung noch nicht sehr stark gewesen war. So war es nach den ersten Tierpassagen fast die Regel, daß der betreffende Stamm in kürzerer oder längerer Zeit die alte Form wieder annahm, seltener geschah es, daß sogar weit veränderte Bakterien wieder Rückschläge zeigten. Als Beispiel werden wir weiter unten die Stämme 117 VI a 1 und a 2 kennen lernen. Ganz besonders merkwürdig ist nun jedoch, wie gerade auch wieder die beiden letztgenannten Stämme zeigen, daß die Gestalt eines echten Diphtheriebacillus zurückgewonnen werden kann, selbst wenn das Bakterium sonst sehr stark verändert ist. Der Bacillus 117 M VI a 1 war anfangs in keinem Punkt typisch und wurde es später in der Form; der Bacillus M VI a 2 ist anfangs nur in $^1/_2$ Punkt noch typisch, später in $2^1/_2$. Er gewann zurück die Form und das Wachstum im tiefen Agarstich. Angesichts solcher Veränderungen ist natürlich daran zu denken, daß eine mehr oder minder vollkommene Rückkehr der Bakterien zu ihrem Ausgangspunkt, selbst wenn sie sehr stark verändert sind, durchaus möglich ist; wir werden weiter unten in dem theoretischen Teil uns noch genauer damit beschäftigen müssen.

Ich möchte zunächst eine Liste der Bakterien, die ich hier besprechen will, geben und bei der Gelegenheit die Formel für dieselben (nach den oben gegebenen Grundsätzen) hinzusetzen.

	Atypisch in	Typisch in ... Punkten
117 VIII	—	5
117 M I 2	m n $s/_2$ v	$1^1/_2$
117 M IV b 2	nicht durchgeprüft, da vorher eingegangen	
117 M IV b 3	m $n/_2$ s v	$1^1/_2$
117 M IV c 4	m $n/_2$ v	$2^1/_2$
117 M IV h 2	—	—
117 M IV h 2 α	m $n/_2$ s v	$1^1/_2$
117 M IV h 2 β	m $n/_2$ s v	$1^1/_2$
117 M IV h 4	anf. n s v, später noch $n/_2$ m	anf. 2, später $1^1/_2$
117 M V c 1	anf. $n/_2$ s v, später noch $m/_2$	anf. $1^1/_2$, später $^2/_2$
117 M VI a 1	anf. m n $t/_2$ s v, später n $t/_2$ s v	anf. $^1/_2$, später $1^1/_2$
117 M VI a 2	anf. m $n/_2$ t s v, später $n/_2$ $t/_2$ s v	anf. $1^1/_2$, später $1^2/_2$
131 VIII	—	5
131 M IV a 3	anf. n s v, später noch m	anf. 2, später 1
131 M IV a 4	m n s v	1

Sämtliche Photographieen sind mit derselben Vergrößerung angefertigt: Zeiß, Immersion 2 mm, Projektionsokular 4, Balgauszug 50 cm. Alle Abbildungen sind also untereinander vergleichbar.

Der Stamm 117 VIII ist ein durchaus typischer Diphtheriebacillus von langer, eleganter Gestalt mit einzelnen kolbenförmigen Anschwellungen und Lagerung in den bekannten V- und T-Formen. Der Stamm 117 M IV b 2 erweist sich wohl als echter Diphtheriebacillus durch die Degenerationskolben. Er ist avirulent und besaß überdies sehr schlechtes Wachstum, so daß er knapp nach der Prüfung ausstarb. Bei ihm ist außerdem bemerkenswert, daß sich im mikroskopischen Präparat ziemlich häufig echte Verzweigungen nachweisen ließen. Der Ausgangsstamm 117 VIII hat nie dieselbe Erscheinung gezeigt, trotzdem natürlich nach der Beobachtung bei M IV b 2 eifrigst danach gesucht wurde. Eine Verzweigung ist in der Fig. 2 auch zu bemerken. Sehr interessant ist nun auch 117 M IV b 3: ebenfalls avirulent zeigte er bei der zweiten Züchtung ganz eigentümlich starre Formen, die an den Heubacillus erinnern. Bei der Herauszüchtung damals dachte ich zunächst an eine Verunreinigung, jedoch fehlte dem Bacillus die Fähigkeit, das Löffler-Serum zu verflüssigen und außerdem zeigt sein ferneres morphologisches Verhalten, das wir an der Fig. 4 beobachten können, daß er wohl zum Formenkreis des Diphtheriebacillus gehört. Die Fig. 4 zeigt die eigentümlichen Kolben, wie man sie nur bei unserer Gruppe findet (links unten). Sonst ist die Form und Lagerung hier durchaus typisch zu nennen. Die Neisser-Färbung, Fig. 5, ist auch abweichend. Hier sind teilweise die Bacillen ganz von den Körperchen erfüllt, zum anderen Teil sind die Körnchen außerordentlich groß und verunstaltet. Der nächste Stamm 117 M IV c 4 ist absolut diphtheroid, äußerst kurz und plump. Außerdem begegnen wir hier im stärksten Maße einer Eigenschaft, die wir oben schon erwähnt haben, dem außerordentlich stark klumpenden Verhalten. Die Neisser-Färbung des Bacillus ist wieder voll ausfüllend.

Sehr interessant ist nun der folgende Stamm 117 M IV h 2. In der 1. Züchtung einige, noch einigermaßen typisch erscheinende, aber auch viele kurze und plumpe, wird er in der 2. Züchtung außerordentlich kurz und von eigentümlicher Gestalt. Bei der Weiterzüchtung spaltet sich nun dieses Bakterium in zwei Linien. Die erste, h 2 α genannt, zeigt zunächst ganz kleine, feste, kokkenförmige Stäbchen, die sich im Laufe eines Jahres jedoch wieder etwas verlängerten, die andere Linie, h 2 β, dagegen zeigt zunächst neben sehr kleinen plumpen auch längere, einigermaßen typische Stäbchen. Einige von diesen besaßen jedoch sonderbare spindelförmige Auftreibungen. Nach einem Jahr ist auch dieser Bacillus wieder verändert, und zwar zu sehr dicken, plumpen und stark aneinander klumpenden, kleinen Stäbchen (Fig. 12). Außerordentlich stark sind nun die Wandlungen, die der Bacillus 117 M IV h 4 durchmachte. Bei der 1. Züchtung Stäbchen und Degenerationsformen, aber bereits klumpend, bei der 2. Züchtung die Stäbchen alle mittellang bis kurz, auch viel plumper dabei und bei der 3. Züchtung zu sehr kleinen, fast kokkenförmigen Gebilden verändert. Die nächsten Aufnahmen, No. 16—20, verdienen nun besonderes Interesse. Der Bacillus 117 M V c 1 bildet bereits bei der 1. Züchtung große Degenerationsformen, die auch bei der 2. Züchtung und nach einem Jahre nicht fehlen, nur daß sie hier zu dicken Aufblasungen und Klumpen, wie man sie sonst wohl in Pestkulturen sieht, geworden sind. Es ist wohl zu bemerken, daß alle die abgebildeten Formen nach 24-stündigem

Wachstum auf Loeffler-Serum gewonnen worden sind. Ja, wenn sich solche Degenerationsformen zeigten, z. B. bei No. 19, so wurde der Bacillus zuerst mehrere Male umgezüchtet und dann nochmals untersucht. Es handelt sich also nicht etwa um alte Kulturen. Sind schon die Fuchsinfärbungen No. 16, 17 und 19 höchst interessant, so sind es noch mehr die Neisser-Färbungen No. 18 und 20. Neben einer großen Anzahl von Bakterien, die in der Gegenfarbe erschienen, hat eine nicht minder große Anzahl, und bezeichnenderweise gerade die Degenerationskolben, die Neisser-Färbung in stärkstem Maße beibehalten, so daß außerordentlich groteske Formen dicke, solide Keulen und aufgeblähte Körner zu sehen sind.

Nunmehr gelangen wir zu den beiden interessantesten Stämmen der ganzen Versuchsreihe, 117 M VI a 1 u. 2, Abkömmlingen von 117 M V a 2. M VI a 1 hatte bereits bei der 1. Züchtung starke Abweichungen von der typischen Gestalt; auch die 2. Züchtung verhält sich gleich; die Lagerung hat zwar ab und zu V-Form, aber die Form ist plump, bei einzelnen stark aufgetrieben. Nach einem Jahr zeigt das Bakterium, wie Fig. 23 zeigt, einen fast vollkommenen Rückschlag. Zwar sind die Formen zum Teil etwas verzerrt, aber doch läßt sich aus dem Präparate ohne weiteres die Diagnose Diphtherie stellen. Noch krasser ist die Erscheinung bei dem Schwesterstamm 117 M VI a 2, Figg. 24—26. Er ist bei der 1. Herauszüchtung mittellang, plump, pseudoartig gelagert, bei der 2. Züchtung ist das pseudoartige Aussehen noch viel deutlicher; man könnte den Bacillus für das Schulbeispiel eines Diphtheroiden erklären, und nach einem Jahr sind die langen, schlanken Formen mit typischer Lagerung wieder in der Mehrzahl.

Fig. 27 zeigt den Stamm 131 VIII, der, wenn auch nicht so lang wie 117, ein durchaus typischer Bacillus genannt werden muß. Sehr viel Interessantes bieten uns nun auf der letzten Tafel 131 M IV a 3 und a 4. 131 M IV a 3 besteht bei der 1. Züchtung aus langen typischen und allen Uebergängen bis zum kurzen atypischen Individuum. In der 2. Züchtung ist die übergroße Anzahl der Individuen ganz kurz; nach 1 Jahr ist der Bacillus wieder bedeutend länger geworden, entfernt sich aber durch seine Plumpheit, seine Lagerung und seine starke Klumpung weit von den typischen Diphtheriebacillen. Dasselbe zeigt das Neisser-Farbbild 31; und zwar zeigt sich die Art, die wir schon öfter antrafen, daß die Polkörner einen großen Teil der Bakterien voll ausfüllend auftreten. Das letzte angeführte Bakterium 131 M IV a 4 bietet nun ganz besondere Eigentümlichkeiten. Bei der 1. Herauszüchtung zeigt es einige noch ziemlich typische Bakterien (Fig. 32 unten und rechts oben); die große Mehrzahl jedoch ist dann verunstaltet, und zwar durch die Bildung von spindel- und kürbisförmigen Auftreibungen. Damit nicht genug, finden sich auch noch im Präparate eine Menge Schatten, die sich dadurch auszeichnen, daß sie nur sehr schwach färbbar sind. Die in Fig. 32 ebenfalls sichtbaren Schatten sind solche schlecht färbbaren Individuen, und nicht etwa in einer anderen Lichtebene gelegene Bakterien. Die 2. Züchtung des Bakteriums brachte eine außerordentliche Verkürzung fast bis zur Kokkenform, sodann schlug jedoch die Form etwas zurück, wie die Figuren 32—36 zeigen. Die Schatten, die ich schon erwähnte, traten mehr zurück. Anfangs hielt ich sie für Verunreinigungen und wurde in diesem noch dadurch bestärkt, daß sie sich bei der Gram-Färbung negativ verhielten, jedoch alle Versuche, diese versehentliche Unreinig-

keit auszumerzen, blieben erfolglos, so daß wir zu der Annahme gezwungen sind, daß diese merkwürdigen Formen immer aus den anderen vollkräftigen in jeder Kultur entstehen. Im übrigen waren sonst alle beobachteten Formen grampositiv. Zu bemerken ist noch, daß der Bacillus 131 M IV a 4 sich immer Neisser-negativ verhielt.

Besonders abweichende und interessante Beobachtungen konnten wir also außer bei diesem letzten Bacillus bei einigen Neisser-Färbungen machen. Ich verweise noch einmal auf die Figuren 5, 18, 20 und 31. Ich möchte hier daran erinnern, daß solche groteske Formen bereits einmal von Dale gemeinsam mit Trautmann beobachtet worden sind. Auch diese Autoren konnten feststellen, daß die Neisser-Körperchen dazu befähigt sind, ganz außerordentlich verschiedene und verzerrte Formen anzunehmen. Einzelne von meinen Figuren ähneln außerordentlich den von Trautmann und Dale in ihren Veröffentlichungen gegebenen. Ich möchte auch bemerken, daß genannte Autoren ebenfalls bemerkten, daß Teile der Diphtheriebacillen gramnegativ werden konnten. Der Hauptunterschied zwischen den zitierten Befunden und den meinigen besteht darin, daß jene Beobachtungen an virulenten Diphtheriebacillen gemacht wurden, während die hier in Frage kommenden Bakterien ihre Virulenz verloren hatten. Deutlicher als alle anderen Beobachtungen, die in dieser Arbeit zusammengefaßt sind, zeigen gerade diese merkwürdigen Bilder, daß der Tierkörper, den wir auf die Bakterien haben einwirken lassen, einen merkwürdigen Einfluß auf das innere Gefüge der Bakterien besitzt. Wir sehen, er kann nicht nur den Bakterien einzelne Lebensäußerungen, wie Virulenz und Vergärungsmöglichkeit, nehmen, er kann sie nicht nur dazu zwingen, ihre Gestalt im ganzen Umriß zu verändern, sondern er bringt sie auch dazu, daß in ihrem inneren Gefüge, in ihrem chemischen Aufbau, kurz, in der morphologischen und biologischen Struktur der ganzen Zelle Veränderungen hervorgerufen werden. Wie diese ganzen Veränderungen zu bewerten sind, davon wird weiter unten in dem theoretischen Teil abzuhandeln sein.

Zunächst noch ein Wort über die morphologische Umgestaltung. Die beigegebenen Figuren zeigen deutlich, daß nicht etwa nach der Herauszüchtung aus den Tierkörpern nun die Umwandlung der einzelnen Bakterien vollkommen abgeschlossen ist, sondern jede Veränderung, die überhaupt noch möglich ist, sehen wir eintreten, und zwar: 1) sofortiger Rückschlag in den vollen Typus, 2) Beharren auf der einmal gegebenen Form, 3) Weiterentwicklung zum Atypus hin, 4) zunächst Weiterentwicklung und in späterer Zeit sodann wieder vollkommener oder unvollkommener Rückschlag zu dem Typus hin.

Gewiß ist gerade bei diesen Beobachtungen der Einwurf zu erwarten, daß die herausgezüchteten Kolonieen nun wieder keine „reine Linie“ gewesen seien, sondern vielleicht aus zwei oder mehreren Keimen ihren Ursprung genommen hätten, von denen der eine mehr, der andere weniger verändert gewesen wäre. Jedoch ist dem zu erwidern, daß erstens, wie schon bemerkt, die Kolonieen der einigermaßen veränderten Bakterien außerordentlich spärlich auf der Platte erschienen und die Wachstumsstärke derselben auch wieder sehr gering gewesen ist, zweitens von mehreren verschiedenen Keimen in derselben Kolonie hätte dann auch sicher gleich bei der 1. Herauszüchtung gerade der vollkräftige unveränderte die Oberhand gewinnen müssen, die späteren Rückschläge wären also wenig verständlich. Sodann ist folgender Haupteinwand

zu machen: Warum behalten die vielleicht in einem Punkte teilweise oder ganz rückschlagenden im übrigen die gleichen Eigenschaften wie zu Anfang?

Gewiß ist diese Vermutung der unreinen Sekundärlinie hiermit nicht ganz abgewiesen, aber das Erzielen von reinen Kulturlinien lag ja auch nicht zu allererst in unserem Interesse, denn das Hauptziel unserer Untersuchung war ja die Feststellung der Veränderungen und die Festlegung, ob die Veränderungen in allen, oder nur in einigen Punkten erfolgten. Bei der hierzu notwendigen vielfältigen Prüfung wäre es unmöglich gewesen, auch noch von jedem sekundären Stamm verschiedene Linien in allen 5 Punkten genau zu untersuchen, und schließlich wäre die Züchtung von „reinen Linien" bei einer großen Anzahl von Stämmen gar nicht möglich gewesen, da ja selbst die Erhaltung der Kultur oft so großen Schwierigkeiten begegnet ist. Bei dem schlechten Wachstum, sogar auf Loeffler-Serum, war z. B. auch das Aufkeimen von Kolonieen auf Agar sehr wenig wahrscheinlich.

Die zusammenfassende Darstellung und Beurteilung der bisher gegebenen Beobachtungen soll weiter unten erfolgen. Zunächst müssen noch weitere Versuche folgen, und zwar

B. Umwandlungsversuche mittels in die Meerschweinchen-Bauchhöhle eingelegter Kollodiumsäckchen.

Nachdem die Einspritzungsmethode zur Umwandlung der Diphtheriebacillen die Ergebnisse gezeigt hatte, die in dem vorhergehenden Abschnitt geschildert sind, lag es nahe, dasselbe mit Verfahren zu versuchen, die die Gefahr einer täuschenden Verunreinigung vollkommen ausschlossen. Zu diesem Zwecke eigneten sich zwei Verfahren, das eine soll nur kurz erwähnt werden, da es keine Ergebnisse geliefert hat.

Es wurde in diesen Versuchen großen Meerschweinchen steril Blut aus dem Herzen genommen und zu gleichen Teilen in 2 sterile Röhrchen gebracht (je 3—4 ccm). Nach Absetzen des Blutkuchens wurde das eine Röhrchen mit dem zu prüfenden Stamme beimpft, das andere zur Kontrolle ohne Beimpfung gelassen und beide in den Blutschrank getan. Nach verschiedenen Zeiten wurden aus dieser Kultur in frischem Serum Ausstriche auf Löffler-Platten gemacht, und zwar immer auf eine ganze Reihe, so daß immer einzelne Kolonieen untersucht werden konnten.

Selbst wenn unsere Stämme 117 und 131 VIII in mehreren Passagen der Einwirkung des Serums ausgesetzt wurden, ließen sich keine verwandelten Kolonieen finden. In dieser Hinsicht können wir also die Befunde Bernhardts und Paneths nicht bestätigen, was vielleicht darin seine Erklärung finden mag, daß verschiedene Diphtheriestämme verschieden leicht umschlagen. Ich behalte mir vor, denselben Versuch mit bereits abgeschwächten echten Stämmen zu unternehmen, die sich aber noch typisch verhalten.

Das zweite Verfahren, das ebenfalls die Gefahr einer Verunreinigung ausschließt, war das der intraperitonealen Kollodiumsäckchen.

Um es gleich vorwegzunehmen: auch dieses ist in seinem Erfolge weit von denen der ersten Versuchsreihe entfernt, aber immerhin zeigt es einige beachtenswerte Tatsachen, die vielleicht einmal Anlaß zu wichtigeren Folgerungen werden können.

Mein Vorgehen war folgendes:

Herstellung des Kollodiumsäckchens.

Von einer Glasröhre mit einer lichten Weite von etwa 3—4 mm wurde ein Stückchen der beigegebenen Größe und Gestalt abgeschmolzen.

Durch Eintauchen des offenen Endes in Kollodiumlösung wurde dasselbe mit einer dünnen Kollodiumhaut überzogen. Sodann wurde die Spitze des Gläschens abgebrochen und das Innere mit einer Spritze vorsichtig mit Bouillon gefüllt. Sodann wurde das Gläschen an einem Faden in Bouillon aufgehängt und das Ganze sterilisiert.

Danach wurde die Bouillon in dem Gläschen mit einer Platinnadel durch die Spitzenöffnung beimpft und letztere mit sterilem Siegellack sofort geschlossen. Nachdem letzterer noch einen Kollodiumüberzug erhalten hatte, wurde das Gläschen mit Aether narkotisierten Meerschweinchen in die Bauchhöhle versenkt und die Wunde mit Etagennaht geschlossen.

Daß durch das Kollodiumhäutchen wirklich ein Säfteaustausch stattfand, ist daran ersichtlich, daß mehrere Tiere an Diphtherievergiftung eingingen (Sektionsbefund typisch), obwohl das Kollodiumhäutchen und Inhalt des Gläschens unversehrt waren.

Starben die Tiere nicht, so wurden sie nach einigen Tagen getötet. Nach Oeffnung der Bauchhöhle fand sich dann regelmäßig der Fremdkörper vom Netz und den Gedärmen eng umwachsen. Nach vorsichtigem Herausziehen wurde sodann mit steriler Spritze das Kollodiumhäutchen durchstochen und der Inhalt aufgesogen.

Ein Tropfen wurde hierauf auf einem Satze Loeffler-Platten ausgestrichen. Es wuchs immer eine sehr große Anzahl Kolonieen. Einige wurden abgestochen und in der üblichen Weise durchgeprüft.

Das Ergebnis dieser Prüfung ist in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Die Bezeichnung der Stämme ist nach denselben Grundsätzen wie oben erfolgt, nur steht hier P statt M.

Bei 117 P I folgen noch die Buchstaben A, B und C, der Stamm 117 VIII wurde nämlich beim ersten Versuch gleichzeitig 3 Meerschweinchen intraperitoneal gegeben.

Die herausgezüchteten Stämme zeigten in der Form weiter nichts Besonderes, wohl aber war die Färbbarkeit bei einer ganzen Reihe ziemlich stark verändert, eine ganze Reihe zeigte ganz geringe, einige fast gar keine Neisser-Färbung. Jedoch pflegte dies bei späteren Züchtungen zu verschwinden, und war sie dann in der Folgezeit immer gut ausgebildet.

Der tiefe Agarstich war bis auf eine Ausnahme typisch. Auch bei dieser Ausnahme fiel die Nachprüfung typisch aus.

Bei der Prüfung im Thielschen Nährboden wurden sowohl bei 117 wie bei 131 einige Stämme gefunden, die etwas später röteten (3—5 Tage!), bei einer ganzen Reihe der 117er konnte jedoch wieder das eigentümliche Verhalten bemerkt werden, daß nach einigen Passagen plötzlich sich eine verstärkte Vergärfähigkeit zeigte (24 Stunden hr. tr.). Das merkwürdigste und bisher noch nicht beobachtete Verhalten zeigten jedoch eine ganze Reihe Stämme bei der Prüfung der Virulenz.

Wie aus der nachstehenden Tabelle VI (s. auch Tab. IV) zu ersehen

Tabelle VI. Intraperitonealstämme 117.

Nummer der Stämme	Abstammung	a) Aussehen (Form und Lagerung) bei der 1. Züchtung	a) Aussehen (Form und Lagerung) bei späteren Züchtungen	b) Neisser-Färbung	c) Wachstum im tiefen Agarstich	d) Verhalten im Thielschen Nährboden	e) Virulenz $^1/_{10}$ Oese intrakutan	e) Virulenz $^1/_{100}$ Oese intrakutan
117 P I A 1	117 VIII	l. s.	l. s	fast 0, später ++	++	5 Tage hr. tr.	N	.
117 P I A 2	„	„	„	+ später ++	++	48 St. hr. tr.	N	.
117 P I A 3	„	„	„	± fast 0, später ++	++	10 T. mr. tr., später 48 St.	N	.
117 P I A 4	„	„	„	0 später ++	++	48 St. hr. tr.	N	.
117 P I A 5	„	„	„	fast 0, später ++	++	„	N	.
117 P I A 6	„	„	„	± atypisch, später ++	++	„	N	.
117 P I B 1	„	„	„	+	++	„	N	.
117 P I B 2	„	„	„	+	++	„	N	.
117 P I C 1	„	„	„	+	++	„	N	.
117 P II 1	117 P I A 3	„	„	+ atypisch, später ++	++	„	N	.
117 P III 1	117 P II 1	„	„	0 später ++	+	24 St. hr. tr.	N	.
117 P III 2	„	„	„	fast 0, später ++	+	„	N	.
117 P III 3	„	„	„	dgl.	± sp.++	„	N	.
117 P III 4	„	„	„	„	++	„	†	N
117 P III 5	„	„	„	± später ++	+	„	†	N
117 P III 6	„	„	„	+	+	„	N	.
117 P IV a 1	117 P III 4	„	„	+	+	„	†	N
117 P IV a 2	„	„	„	+	+	„	†	N
117 P IV a 3	„	„	„	fast 0, später +	+	„	†	N
117 P IV a 4	„	„	„	++	+	„	†	N
117 P IV a 5	„	„	„	++	++	„	†	N
117 P IV a 6	„	„	„	+	++	„	†	N
117 P IV b 1	117 P III 5	„	„	+	+	„	†	N
117 P IV b 2	„	„	„	+	+	48 St. hr. tr.	N	.
117 P IV b 3	„	„	„	+	++	24 St. hr. tr.	N	.
117 P IV b 4	„	„	„	+	+	48 St. hr. tr.	N	.
117 P V a 1	117 P IV a 1	„	„	++	++	24 St. hr. tr.	†	N
117 P V a 2	„	„	„	++	++	„	†	N
117 P V a 3	„	„	„	+	++	„	†	N
117 P V a 4	„	„	„	++	++	„	†	N

ist, war die Virulenz des Stammes 117 so, daß $^1/_{10}$ Oese, intrakutan injiziert, eine große Nekrose (N) hervorrief.

Nach einigen Bauchhöhlenpassagen zeigte sich nun plötzlich eine starke Steigerung der Virulenz, so daß $^1/_{10}$ Oese den Tod des Versuchstieres und $^1/_{100}$ Oese noch eine ziemlich große Nekrose hervorrief.

Tabelle VII. Intraperitonealstämme 131.

Nummer der Stämme	Abstammung	a) Aussehen (Form und Lagerung) bei der 1. Züchtung	a) Aussehen (Form und Lagerung) bei späteren Züchtungen	b) Neisser-Färbung	c) Wachstum im tiefen Agarstich	d) Verhalten im Thielschen Nährboden	e) Virulenz intrakutan $^1/_{10}$ Oese	e) Virulenz intrakutan $^1/_{100}$ Oese
131 P I 1	131 VIII	l. s.	l. s.	+	+	48 St. hr. tr.	N	.
131 P I 2	„	„	„	+	+	„	N	.
131 P I 3	„	„	„	+	+	„	N	.
131 P I 4	„	„	„	++	+	„	N	.
131 P I 5	„	„	„	+	+	5 Tage hr. tr.	N	.
131 P I 6	„	„	„	++	+	48 St. hr. tr.	N	.
131 P II a 1	131 P I 6	„	„	± später +	++	„	N	.
131 P II a 2	„	„	„	+	++	3 Tage hr. tr.	N	.
131 P II a 3	„	„	„	± später +	++	„	N	.
131 P II a 4	„	„	„	± „ +	++	„	N	.
131 P II a 5	„	„	„	0 „ +	++	„	N	.
131 P II b 1	131 P I 5	„	„	0 „ +	++	48 St. hr. tr.	N	.
131 P II b 2	„	„	„	± „ +	++	„	N	.
131 P II b 3	„	„	„	0 „ +	++	„	N	.

Bemerkenswerterweise bewirkten alle diese Stämme auch die Rötung und Trübung des Thielschen Nährbodens nach 24 Stunden.

Bei 131 konnte Aehnliches nicht beobachtet werden, so daß ich die Frage offen lasse, ob es sich hier um eine künstliche Virulenzsteigerung oder um eine zufällige Veränderung handelt. Immerhin verdient diese Beobachtung weiter verfolgt zu werden, da künstliche Steigerung der Virulenz bei Diphtheriebacillen bisher noch nie gelungen ist.

C. Zusammenfassende Darstellung der bisherigen Beobachtungen, verglichen mit dem Ausfall von Ablenkungsversuchen.

Die in den vorhergehenden Abschnitten gegebenen Erläuterungen zeigten uns, daß sämtliche 5 Haupteigenschaften der Diphtheriebacillen durch den Tierkörper in wechselndem Spiel abgeschwächt und unterdrückt, vielleicht auch gesteigert werden können. Was das letztere angeht, so sind allerdings die erhobenen Befunde noch so geringfügig, daß sie zu weiterer Verwertung nicht geeignet erscheinen. Anders jedoch mit dem „Verlust“ der Eigenschaften. Er ist genügend deutlich und in allen Stufen genau feststellbar, so daß es sich verlohnt, die erzielten Umstimmungen nunmehr in übersichtlicher Weise zusammenzustellen. Im Anschluß daran soll dann noch eine letzte Versuchsreihe gezeigt werden, in der mit Hilfe von Serumreaktionen versucht wurde, die Verwandtschaft der einzelnen Stämme zu untersuchen.

Tabelle VIII.

Stämme 117	A	B	C							D	E							F
	Anzahl der Stämme	davon ganz typisch	Abweichend, dauernd oder zeitweise, in . . . Punkten							Vollständig rückschlagend	Dauernd verändert in . . . Punkten							Teilweise rückschlagend
			Gesamtzahl	1	2	3	4	5	hiervon virul.		Gesamtzahl	1	2	3	4	5	hiervon virul.	
M I	2	1	1	.	.	.	1 (av.)	.	0	0	1	.	.	.	1 (av.)	.	0	0
M II	8	4	4	3	.	1	.	.	4	2	2	2	.	.	.	.	2	0
M III	16	4	12	8	3	.	1 (av.)	.	11	2	10	6+3 ←	.	.	1 (av.)	.	9	3
M IV	27	8	19	1	.	6 (av.)	10 (av.)	2 (av.)	1	0	19	1	.	6 (av.)	10 (av.)	2 (av.)	1	0
M V	7	0	7	2	.	1 (av.)	1 (av.)	3 (av.)	2	2	5	.	.	1 (av.)	1 (av.)	3 (av.)	0	0
M VI	2	0	2	.	.	.	.	2 (av.)	0	0	2	.	.	.	2 (av.) ←	.	0	2
Summe	62	17	45	14	3	8	13	7	18	6	39	12	0	7	15	5	12	5
				38								34						

Unter 62 Stämmen sind also:
ganz typisch 17
abweichend 45

Unter den 45 abweichenden sind:
virulent 18
avirulent 27

Unter den 45 abweichenden sind ferner:
dauernd verändert 39
vollständ. rückschlagend 6

Unter den 39 dauernd veränderten sind:
ganz unveränderliche 34
teilweise rückschlagend 5

Unter den 18 virulenten Stämmen der Tabelle C sind:
in 1 Punkte abweichend 14, und zwar: 1mal n
4mal n?
2mal n rückschlagend
2mal n? „
4mal t?
1mal t rückschlagend
in 2 Punkten abweichend 3, und zwar: 2mal n? t?, später t?
1mal n? t?, später n?
in 3 Punkten abweichend 1, und zwar: n t m/2, später vollkommen rückschlagend.

Die 12 virulenten der dauernd veränderten (E) sind entsprechend den Rückschlägen alle **nur in 1 Punkte abweichend.**

Unter 62 Stämmen fanden sich: **17 ganz typische**
38 Uebergangsformen
7 (5) vollkommen diphtheroide.

Tabelle IX.

Stämme 131	A	B	C							D	E							F
	Anzahl der Stämme	davon ganz typisch	Abweichend, dauernd oder zeitweise, in . . . Punkten							Vollständig rückschlagend	Dauernd verändert in . . . Punkten							Teilweise rückschlagend
			Gesamtzahl	1	2	3	4	5	hiervon virulent		Gesamtzahl	1	2	3	4	5	hiervon virulent	
M I	2	2	.	.	.	.	.	.	.	0	.	.	.	.	.	.	.	0
M II	7	3	4	3	1	.	.	.	4	4	.	.	.	.	.	.	.	0
M III	8	5	3	1 sehr schwach virulent	.	.	2 (av.)	.	1 (schwach)	0	3	1 sehr schwach virulent	.	.	2 (av.)	.	1 (schwach)	0
M IV	7	0	7	.	1 (av.)	1 (av.)	3 (av.)	2 (av.)	.	0	7	.	1 (av.)	1 (av.)	3 (av.)	2 (av.)	.	0
Summe	24	10	14	4	2	1	5	2	5	4	10	1	1	1	5	2	1	0
				12								8						

Unter 24 Stämmen sind also:

ganz typisch	10
abweichend	14 (1 schwach virulent, 13)

Unter den 13 abweichenden sind:

virulent	4
avirulent	9

Unter den 14 abweichenden sind ferner:

dauernd verändert	10
vollständ. rückschlagend	4
teilweise rückschlagend	0

Von den dauernd virulenten Stämmen der Tabelle C sind
in 1 Punkte abweichend 3, und zwar
1mal $n/_2$
1mal n
1mal m
in 2 Punkten abweichend 1, und zwar
m n.

Dieselben schlugen alle zurück, so daß sich in Tabelle E kein dauernd veränderter virulenter mehr findet (der eine, M III, der schwach virulent ist, ist nur in diesem Punkte atypisch).

Unter den 24 Stämmen fanden sich:
10 ganz typische,
12 Uebergangsformen,
2 vollkommen diphtheroide.

Die Fragen, die uns in diesem Abschnitt nun des näheren beschäftigen, sind folgende:

I. Welcher Art sind die erzielten Veränderungen?
II. In welcher Weise vollzog sich der Wechsel der Eigenschaften?
III. Sind die erzielten neuen Eigenschaften alle erblich oder kommen Rückschläge vor?

Wie wir sehen werden, ergibt sich mit der Beantwortung dieser drei Fragen auch noch die weitere, nämlich ob die so stark veränderten Bakterien wirklich die Abkömmlinge der eingespritzten volltypischen Diphtheriebacillen sind. Wie wir sehen werden, schließen sich in dieser Beziehung die einzelnen Befunde zu einem harmonischen Beweisring zusammen, der zusammen mit den oben schon erwähnten Punkten uns die wichtige Gewißheit gibt, daß diese Abstammungsverhältnisse wirklich vorliegen.

Die Besprechung der dritten Frage wird in der Hauptsache in dem letzten Hauptteil erfolgen. Um unnütze Wiederholungen zu vermeiden, wird an dieser Stelle also nur das unbedingt Notwendige gesagt werden.

Am Beginn dieser Schrift ist dargelegt worden, daß das Hauptziel der heutigen Forschung über Diphtheriebacillen und Pseudodiphtheriebacillen dahin geht, ob es möglich ist, festzustellen, die einen in die anderen überzuführen. Dies ist uns in den oben gegebenen Versuchsreihen ohne Zweifel gelungen. Die Ausgangsstämme 117 VIII und 131 VIII waren reine Linien von typischen, in allen fünf Punkten voll genügenden Diphtheriebacillen, die auch nie im Laufe einer langen Beobachtungszeit Veränderungen ihres Verhaltens zeigten. Aus diesen wurden, nicht gerechnet die zahlreichen Zwischenformen, auf die wir weiter unten ausführlicher zu sprechen kommen werden, $6+2=8$ in allen fünf Punkten veränderte Stämme im Verlaufe von sechs bzw. vier Meerschweinchenpassagen gewonnen.

So viel steht also fest: **es ist eine vollkommene Umwandlung der fünf entscheidenden Artmerkmale möglich.**

Die zweite Frage nach dem „Wie" der Umwandlung umschließt nun wieder zwei neue Fragen:

a) Gehen die betreffenden Verwandlungen ganz plötzlich, stoßweise oder langsam vor sich?
b) Wurden alle Bakterienzellen oder nur einzelne von der Verwandlung betroffen?

Natürlich können wir hier, wie bei jedem biologischen Versuche, die einzelnen Stadien nicht alle beobachten, wir können nur aus den herausgegriffenen Stichproben uns ein ungefähres Bild des Verlaufes zurechtlegen.

Schon bei der oberflächlichen Betrachtung der Tabellen IV und V fällt auf, daß, je weiter wir in den Reihen heruntergehen von den M I- zu den M II-Stämmen usw., desto häufiger werden die Veränderungen, desto bedeutender ist die allgemeine Umwandlung.

Diese mit den fortgesetzten Meerschweinchenpassagen ständig zunehmenden Veränderungen sind nun an den Tabellen VIII und IX deutlich zu erkennen. In diesen Tabellen sind nach der Reihenfolge der M I, M II usw. die Gesamtzahl der Stämme (A), die typischen (B), die überhaupt abweichenden (C), die vollständig rückschlagenden (D), die

dauernd verwandelten (E) und die teilweise rückschlagenden (F) eingezeichnet.

Sicher würde das Gesetzmäßige des Ablaufes noch besser zum Ausdruck kommen, wenn es möglich gewesen wäre, nach der ersten Passage alle hervorsprießenden Kolonieen zu untersuchen. Das war wegen der Menge unmöglich; erst von der dritten M-Passage ab war die Zahl der aufsprießenden Kolonieen so klein, daß sie alle untersucht werden konnten.

Aber selbst bei Vernachlässigung dieses Nachteiles ist der Ablauf durchaus eindeutig; wie an den Kolonieen A und B zu sehen ist, wird der Anteil der ganz typischen an der Gesamtzahl immer geringer. Bei 117 M I und 117 M II beträgt er die Hälfte (ihr wirkliches Verhältnis war viel schlechter!). Bei M III ein Viertel, bei M IV etwa ebensoviel und bei M V und M VII schließlich 0. Die dauernd veränderten (E) nehmen umgekehrt in der Reihenfolge von oben nach unten immer größere Teile der Gesamtzahl ein.

Bei M II ein Viertel, bei M III fast zwei Drittel, bei M IV über zwei Drittel, bei M V fünf Siebentel und M IV die ganze Zahl.

Etwas rascher, jedoch in derselben Weise, verlief der Umschlag bei 131.

Tabelle X.

Verteilung der avirulenten und virulenten Formen auf die verschiedenen M-Serien.

	Avirulente	Virulente	Zusammen
117 M I	1	1	2
117 M II	0	8	8
117 M III	1	15	16
117 M IV	18	9	27
117 M V	5	2	7
117 M VI	2	0	2
Summe	27	35	62

	Avirulente	Virulente	Zusammen
131 M I	0	2	2
131 M II	0	7	7
131 M III	2	6	8
131 M IV	7	0	7
Summe	9	15	24

Den langsamen Abbau der einzelnen Eigenschaften können wir auch bei Berücksichtigung der Anzahl der atypischen Punkte beobachten. Wenn wir die Tabellen in der Wagerechten betrachten, sehen wir, daß die Verwandlungen in 3 und mehr Punkten fast ausschließlich nach der 3. M-Passage auftreten.

Das Gleiche zeigt die obige Tabelle X, in der die M I- und M II-Stämme nur nach der Virulenz und Avirulenz gesondert sind. Auch hier steigt die Verhältniszahl der avirulenten mit der Zahl der Passagen, während die Zahl der Virulenten bei der 3. bzw. 4. Passage bis auf 0 sinkt.

Noch deutlicher findet jedoch der allmähliche Abbau der Eigenschaften seinen Ausdruck, wenn wir nur die Stämme berücksichtigen, die wieder für weitere Einspritzungen benutzt worden sind. Es konnten ja natürlich nicht alle wieder in ein Meerschweinchen eingespritzt werden.

In den folgenden beiden Stammbäumen von 117 und 131 (Tabelle XI und XII) sind also nur die wieder eingespritzten Stämme und sämtliche Endstämme eingezeichnet. Die kleinen eingeklammerten Zahlen unter der Stammesbezeichnung bedeuten immer die Zahl der Punkte, in denen der Stamm sich noch typisch verhält.

Zunächst möchte ich darauf hinweisen, daß ich zu weiteren Einspritzungen immer die Stämme gewählt habe, die sich auch nach der

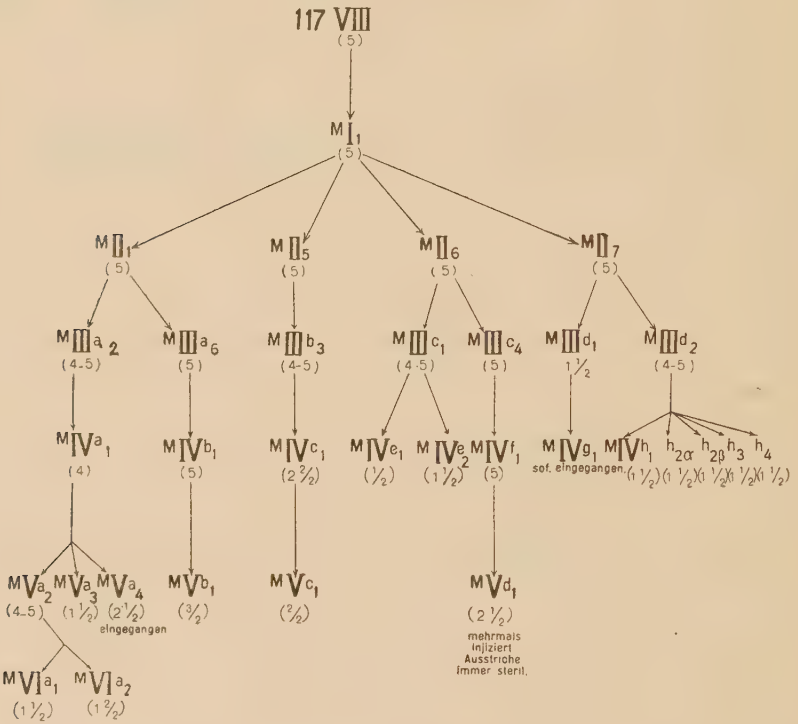


Tabelle XI.

Herauszüchtung aus den Meerschweinchen ganz oder zum großen Teil typisch verhielten. Auf diese Weise ist es gelungen, jeden Bacillus so zu verwandeln, daß er in den meisten Punkten atypisch geworden ist. Wenn wir die Endglieder in den Reihen M IV, M V und M VI betrachten, so finden wir außer 131 M IV c 2 keinen einzigen mehr, der sich in mehr als 2 ganzen Punkten noch typisch verhält.

Der genannte 131 M IV c 2 wurde mehrere Male Meerschweinchen eingespritzt, ohne daß es gelungen wäre, neue Stämme herauszuzüchten. Die Platten blieben keimfrei.

Festzuhalten ist aber als Ergebnis, daß es gelingt, durch mehrfache Meerschweinchenpassage einen volltypischen Diphtheriebacillus der Mehrzahl seiner Eigenschaften zu

entkleiden, so daß Formen entstehen, die man bisher für einer anderen Art angehörig betrachtete.

Die Umwandlung erfaßt also alle Abkömmlinge eines Stammes mehr oder weniger rasch, und darin liegt gleichzeitig noch eine Feststellung: sie erfolgt nach und nach.

Es ist klar, daß bei einer solchen allmählichen Umwandlung auch zahlreiche noch unvollkommen verwandelte anzutreffen sein müssen. Und tatsächlich ist dem auch so. Zahlenmäßig ist das sehr gut wieder bei der Tabelle VIII und IX festzustellen. Die letzte Wagerechte gibt uns da die einschlägigen Zahlen. Wie schon oben bemerkt, sind bei 117 von 62 Stämmen 17 ganz typisch geblieben. Wenn wir als Zwischenstufen diejenigen Stämme ansehen, die in 1—4 Punkten verändert waren, so sehen wir, daß diese Zahl 38 beträgt; wenn die Zahl derer, die in den

Tabelle XII.

Volltypus zurückschlagen, abgezogen wird, sind es 34. Die in 5 Punkten veränderten dagegen betragen 7, und davon bleiben 5 konstant.

Bei 131 sind die Zahlen:

0	Punkte	verändert	10
1—4	„	„	12 (bzw. 8)
5	„	„	2

Sehr lehrreich ist auch hier ein Vergleich mit der folgenden Tabelle XIII, die eine Uebersicht der Stämme aus dem Jahre 1913 gibt. Von 44 Stämmen sind hier 19 voll typisch, 10 nehmen eine Mittelstellung ein und 15 sind in allen Punkten atypisch. Obwohl die Gesamtzahl der Stämme hier kleiner ist, fand ich doch 3mal mehr „Diphtheroide“ als z. B. bei den Stämmen 117. Auf die Bedeutung dieser Beobachtung werden wir später noch näher einzugehen haben.

Tabelle XIII.
Stämme 1913.

	A	B	C							D
	Anzahl der Stämme	davon ganz typisch	Dauernd abweichend in . . . Punkten							Rückschlagend
			Gesamtzahl	1	2	3	4	5	hiervon virul.	
1. Echte Diphtheriebac.	24	19	5	4 (2 av.)	1 (av.)	.	.	.	2	0
2. Zweifelhafte	4	0	4	.	1 (av.)	2 (av.)	.	1 (av.)	0	0
3. Diphtheroide	16	0	16	.	.	.	2 (av.)	14 (av.)	0	0
Summe	44	19	25	4	2	2	2	15	2	0
					10					

Unter 44 Stämmen fanden sich:

ganz typisch	19
Uebergangsformen	10
vollkommene Diphtheroide	15

Wie wir gesehen haben, geschieht die Umwandlung der Stammeseigentümlichkeiten allmählich, und da ergibt sich natürlich die Frage, welche Eigenschaft als lockerste zu betrachten ist, welche zuerst zu verschwinden pflegt, ob überhaupt eine gewisse Reihenfolge bei der Ausmerzung der Eigenschaften obwaltet.

Unsere früheren Versuche schienen darauf hinzuweisen, daß dem Diphtheriebacillus bei der Verwandlung zuerst immer die Virulenz abhanden käme. Doch die Beobachtungen der vorliegenden Arbeit lassen es glaubhaft erscheinen, daß auch zuerst die Neisser-Färbung verschwinden kann, ohne daß der Stamm avirulent wird. Ein Beispiel dafür ist der Stamm 117 M IV a 1. Auch bei anderen virulenten wurde die Neisser-Färbung wenigstens zeitweise zweifelhaft (Intraperitonealstämme). Auch das Wachstum im tiefen Agarstich kann schlechter werden, z. B. bei erhaltener Virulenz. Nie wurde jedoch beobachtet, daß bei einem virulenten Stamme die Fähigkeit zu anaërobem Wachstum ganz aufhörte. Diese Fähigkeit zur Anaërobiose scheint daher mit der Virulenz in Beziehung zu stehen. Auch bei den virulenten Stämmen aus dem Jahre 1913 wurde bei keinem das anaërobe Wachstum vermißt.

Es bleibt schließlich noch die dritte Frage nach dem Rückschlag. Auch sie überschauen wir am besten bei Betrachtung der Tabelle VIII und IX. Wir sehen da, daß vollständige Rückschläge nur dann vorkommen, wenn die betreffenden Stämme noch nicht tiefgreifend verändert sind, wenn ein, höchstens zwei Punkte von der Verwandlung ergriffen waren; dementsprechend finden wir die Rückschläge auch in der Mehrzahl nach den ersten Meerschweinchenpassagen. Sicher sind diese Rückschläge aus einem atypischen Punkt zum Typus häufiger, als wir sie verzeichnen konnten. Diejenigen, die wir allein richtig erfassen können, sind doch nur die morphologischen und färberischen Rückschläge. Bei den Rückschlägen der Kultureigenschaften ist die Beobachtung durch die natürlichen Fehlerquellen sehr erschwert.

Hatte ein Stamm einmal seine Virulenz verloren, so

konnte eine Wiedererlangung derselben **nie** beobachtet werden, selbst wenn er in anderen Punkten zum Typus zurückschlug.

Teilweise Rückschläge sind ziemlich selten. Im ganzen Material der M-Stämme sind 5 beobachtet worden, hiervon 3 von 2 zu 1 atypischen Punkte und 2 von 5 auf 4 atypische Punkte. Es sind dies die beiden Stämme 117 M VI a 1 und 2, die nach geraumer Zeit nur die Form der Diphtheriebacillen wiedererlangten, sich sonst aber in Kulturprüfung usw. nicht veränderten. Es ist damit natürlich nicht entschieden, daß die Stämme so bleiben werden, es wäre durchaus im Bereich der Möglichkeit, daß sich nach und nach auch die eine oder die andere Fähigkeit wiedereinstellt. Sehr auffallend ist aber bei 117 M VI a 2, daß die zuerst gut ausgebildete Fähigkeit, im anaëroben Stich zu wachsen, in der gleichen Zeit, in der der „Rückschlag" erfolgte, schlechter wurde.

Es scheint, daß, je länger die Beobachtung der Stämme ausgedehnt wird, desto mehr Veränderungen und Abweichungen nach vorwärts und rückwärts beobachtet werden können. Das zeigen uns nicht nur diese „Rückschläge", das lehrten uns auch die Photographieen. Wie wir die gesamten Beobachtungen auch in dieser Hinsicht zu werten haben, wird weiter unten erörtert.

So viel zeigen uns jedoch die beobachteten Rückschläge, daß tatsächlich unter allen diesen beobachteten Stämmen verwandtschaftliche Beziehungen bestehen. Ein Rückschlag vom Diphtheroid- zum Diphtherietypus, selbst wenn er nur teilweise erfolgt, wäre ja sonst gar nicht zu erklären. Außerdem zeigen dies auch die vielen Uebergangsformen, die wir beobachtet haben. Es ist dies also ein weiterer Beweis dafür, daß die herausgezüchteten Stämme tatsächlich die Abkömmlinge der eingespritzten Bakterien sind. Um diesen Beweis nun noch mehr zu erhärten, sowie um Genaueres über die verwandtschaftlichen Beziehungen sowohl zu den in der Natur vorkommenden Diphtheriebacillen wie auch zu den dort auffindbaren Diphtheroiden zu klären, wurden verschiedene Komplementablenkungsversuche angestellt, die im folgenden näher beschrieben werden sollen.

Ursprünglich war geplant, diese Verwandtschaftsprüfungen mittels einer anderen Immunitätsreaktion, der Agglutination, vorzunehmen. Wie bei der Schilderung der einzelnen Stämme bereits ausgeführt wurde, war jedoch eine große Anzahl so stark klumpend, und fielen versuchsweise angestellte Aufschwemmungen so schlecht aus, daß ein ersprießliches Arbeiten mit diesem Verfahren nicht zu erwarten schien. Wir versuchten auch durch Abschleuderung der Bakterienteilchen in der Zentrifuge, ferner durch verschieden lange Hitzebehandlung, die Aufschwemmungen gleichmäßig zu machen, ohne jedoch diese Bemühungen von Erfolg gekrönt zu sehen. Ich beschloß daher, das Verfahren der Komplementablenkung zu benutzen. Zu diesem Zwecke wurden je zwei Kaninchen zu mehreren Malen mit steigenden Dosen der abgetöteten Bacillen 117 VIII und 131 VIII intravenös eingespritzt. Nachdem die Tiere ungefähr 4—5 Einspritzungen durchgemacht hatten, zeigte ein Vorversuch, daß ihr Serum in hohem Maße ablenkende Antikörper für die eingespritzten Stämme besaß. Es wurde sodann den Tieren eine genügende Menge Blut abgenommen und sogleich die Versuche mit sämtlichen noch vorhandenen Stämmen ausgeführt.

Tabelle XIV. Ablenkungsergebnis der **Stämme 117** mit **Serum 117.**

Nummer	Serumdosis 0,1	0,01	0,006	0,004	Bacillenkontrolle	derselbe Stamm war atypisch in den Punkten:	also typisch in . . . Punkten
117 VIII	++	++	+	±	0	—	5
117 M I 1	+.	±	0	0	0	—	5
117 M I 2	±	0	0	0	0	m n s/2 v	1½
117 M II 1	++	+	0	0	0	—	5
117 M II 2	++	+	0	0	0	—	5
117 M II 3	++	±	0	0	0	—	5
117 M II 4	++	+	0	0	0	—	5
117 M II 5	++	±	0	0	0	(n?)	5 (4?)
117 M II 6	++	±	0	0	0	anfangs n t m/2, später —	anf. 2½, spät. 5
117 M II 7	++	+	±	0	0	anfangs n/2, später —	anf. 4, spät. 5
117 M II 10	++	+	0	0	0	n?	4—5
117 M III a 2	++	++	+.	+	0	t?	4—5
117 M III a 3	++	++	+	±	0	t?	4—5
117 M III a 4	++	++	+	±	0	—	5
117 M III a 5	++	+	±	0	0	—	5
117 M III a 6	++	±	0	0	0	anfangs t, später —	anf. 4, spät. 5
117 M III b 1	++	+	0	0	0	n?	4—5
117 M III b 3	++	++	+	±	0	anfangs n? t?, später n?	anf. 3—4, spät. 4—5
117 M III b 4	++	±	0	0	0	t?	4—5
117 M III c 1	++	++	+	0	0	t?	4—5
117 M III c 2	++	++	+	0	0	—	5
117 M III c 3	++	0	0	0	0	—	5
117 M III c 4	++	++	+	±	0	anfangs n?, später —	anf. 4—5, spät. 5
117 M III d 1	±	0	0	0	0	m n/2 t v	1½
117 M III d 2	++	+	±	0	0	anfangs n t?, später t?	anf. 3—4, spät. 4—5
117 M III d 3	++	+	+	±	0	n?	4—5
117 M III d 4	++	±	0	0	0	anfangs n t?, später t?	anf. 3—4, spät. 4—5
117 M IV a 1	++	+	+	±	0	n	5
117 M IV b 1	++	+	0	0	0	—	4
117 M IV b 3	++	0	0	0	0	t n/2 s v	1½
117 M IV c 1	+.	+	±	0	0	m/2 n/2 v	2½
117 M IV c 2	++	±	0	0	0	m/2 n/2 v	2½
117 M IV c 3	±	0	0	0	0	m/2 n/2 v	2½
117 M IV c 4	+.	+	0	0	0	m/2 n/2 v	2½
117 M IV e 1	⊕	0	0	0	0	m n/2 t s v	½
117 M IV e 2	+	±	0	0	0	anfangs n/2 s v, später noch m	anf. 2½, spät. 1½
117 M IV f 1	++	+.	+	0	0	—	5
117 M IV f 2	++	+.	+	0	0	—	5
117 M IV f 3	++	+.	+	0	0	—	5
117 M IV f 4	++	+.	+	0	0	—	5
117 M IV f 5	++	+.	+	0	0	—	5
117 M IV f 6	++	+.	+	0	0	—	5
117 M IV f 7	++	+.	+	0	0	—	5
117 M IV f 8	++	±	0	0	0	m/2 n/2 s v	1²/₂
117 M IV f 9	⊕	0	0	0	0	anfangs n t s v, später noch m	anf. 1, spät. 0
117 M IV f 10	±	0	0	0	0	n t s v	1
117 M IV h 1	++	±	0	0	0	anfangs m/2 n/2 s v, später m	anf. 1²/₂, spät. 1½
117 M IV h 2 α	++	0	0	0	0	m n/2 s v	1½
117 M IV h 2 β	++	±	0	0	0	m n/2 s v	1½
117 M IV h 3	+	±	0	0	0	m n/2 s v	1½
117 M IV h 4	++	+	0	0	0	anfangs n s v, später noch n/2 m	anf. 2, spät. 1½
117 M IV h 5	++	0	0	0	0	„ n s v, „ „ n/2 m	„ 2, „ 1½
117 M V a 1	++	±	0	0	0	anfangs n/2, später —	anf. 4½, spät. 5
117 M V a 2	++	0	0	0	0	anfangs n, später —	anf. 4, spät. 5
117 M VI a 1	+	0	0	0	0	anf. m n t/2 s v, spät. n t/2 s v	anf. ½, spät. 1½
117 M VI a 2	++	0	0	0	0	anf. m n/2 s v, spät. n/2 t/2 s v	anf. 1½, spät. 1²/₂

Kontrolle: Serum 117 allein **alles gelöst.**

Tabelle XV.

Zum Vergleich wurden folgende Stämme mit dem **Serum 117** auf Ablenkung geprüft:

Bezeichnung	Serumdosis 0,1	0,01	0,006	0,004	Bacillenkontrolle	derselbe Stamm war atypisch in den Punkten:	als typisch in . . . Punkten
117 VIII	++	++	++	+	0	—	5
131 VIII	++	+	⊕	0	0	—	5
Di 229	++	++	+	0	0	—	5
Di Grw.	+	±	0	0	0	—	5
Di 89	+	0	0	0	0	—	5
Di 2211	+	0	0	0	0	—	5
Di 2215	+	0	0	0	0	—	5
462	+	±	0	0	0	n	4
375	0	0	0	0	0	m t/2 v	2½
84	⊕	0	0	0	0	m/2 v	3½
Psd.-Grw.	0	0	0	0	0	m n t s v	0
„ 160	0	0	0	0	0	m n t s v	0
Xerose	0	0	0	0	0	m n t s v	0

Kontrolle: Serum allein **überall gelöst.**

Tabelle XVI. Ablenkungsergebnis der **Stämme 131** mit **Serum 131.**

Nummer	Serumdosis 0,1	0,01	0,006	0,004	Bacillenkontrolle	derselbe Stamm war atypisch in den Punkten	also typisch in . . . Punkten
131 VIII	++	++	++	+	0	—	5
131 M I 1	++	++	++	+	0	—	5
131 M I 2	++	++	++	+	0	—	5
131 M II 1	++	++	++	+	0	anf. m n, später —	anf. 3, später 5
131 M II 2	++	++	+.	±	0	„ n/2, „ —	„ 4½ „ 5
131 M II 3	++	++	++	+	0	„ n, „ —	„ 4 „ 5
131 M II 4	++	++	++	+	0	—	5
131 M II 5	++	++	++	+	0	—	5
131 M II 6	++	++	++	+	0	„ m, „ —	anf. 4, später 5
131 M II 8	++	++	+.	±	0	—	5
131 M III a 1	+	0	0	0	0	m n t v	1
131 M III a 2	+	±	0	0	0	m n t v	1
131 M III b 2	++	++	+.	±	0	—	5
131 M III b 4	++	++	++	+	0	—	5
131 M III c 1	++	++	++	+	0	—	5
131 M III c 2	++	++	++	+	0	v?	5
131 M III c 3	++	++	++	+	0	—	4
131 M III c 4	++	++	++	+	0	—	5
131 M IV a 2	+	0	0	0	0	m n s v	5
131 M IV a 3	+	⊕	0	0	0	anf. n s v, später noch m	1
131 M IV a 4	+.	⊕	0	0	0	m n s v	1
131 M IV c 1	+	⊕	0	0	0	m n s t v	0
131 M IV e 1	+	0	0	0	0	anf. m/2 n/2 t s/2 v, sp. m n/2 t s/2 v	anf. 3/2, spät. 2/2
131 M IV e 2	±	±	0	0	0	m n/2 v	2½

Kontrolle: Serum 131 allein **alles gelöst.**

Zeichenerklärung:

positiv

++ ganz gehemmt
+. fast ganz gehemmt
\+ etwas gehemmt
± Spur Hemmung (ganz kleine Kuppe)

negativ

⊕ fast ganz gelöst (ganz dünner Schimmer)
0 vollständig gelöst

Komplementablenkungsversuche.

Die Ergebnisse sind in den Tabellen XIV–XVII aufgeführt. In denselben steht links die Bezeichnung des geprüften Stammes, sodann die Reaktionsgröße desselben mit den verschiedenen Serummengen. Es folgt weiter der Ausfall der Bacillenprüfung auf Eigenhemmung, die nie vorkam. Schließlich fügte ich auf der rechten Seite der Tabelle noch die Formel des Bacillus, wie wir sie oben kennen gelernt haben, bei, damit ein Vergleich rasch ausgeführt werden kann. Wie wir an den Tabellen sehen können, sind die ablenkenden Fähigkeiten der beiden Seren 117 und 131 fast genau die gleichen für die homologen Stämme. Beide geben mit dem zugehörigen Stamm bis 0,006 starke Hemmungen, und auch das letzte Röhrchen mit 0,004 ist deutlich gehemmt. In diesem letzten Röhrchen war bei verschiedenen Versuchen das Ergebnis etwas verschieden. Mit den homologen Stämmen war der Ausfall hier einmal etwas stärker, einmal etwas schwächer, immer war aber eine deutliche Hemmung festzustellen. Als Antigen wurde $^1/_2$ Oese Bacillenaufschwemmung genommen. Vorversuche hatten ergeben, daß bei $^1/_2$ Oese bereits die stärkste Hemmung erreicht wurde. Selbst 1 Oese hatte nie selbsthemmende Wirkung.

Die Menge des zu verwendenden Komplementes wurde vor jedem Versuch austitriert, Vorversuche ergaben, daß die einfache und die $1^1/_2$-fache lösende Menge die besten und regelmäßigsten Ergebnisse hatten. Es wurde infolgedessen bei den Versuchen die $1^1/_2$-fache Dosis genommen; da die lösende Dosis gewöhnlich 0,02 war, also 0,03.

Als Amboceptor wurde die doppelte Dosis eines hochwertigen Hämolysins verwandt und zwar immer das gleiche mit dem Titer 1:2000. Die benutzte Verdünnung war also 1:1000.

Die Blutkörperchenaufschwemmung war wie üblich 5-prozentig.

Die Bezeichnung der Reaktionsgrößen in den Tabellen ist folgendermaßen: ++ ganz gehemmt, +. fast ganz gehemmt, + etwas gehemmt, ± Spur Hemmung, so daß sich beim Stehenlassen noch eine ganz kleine Kuppe Bodensatz zeigte. Diese Befunde wurden als positiv betrachtet. Bei dem Uebergang zu den negativen steht der folgende Befund: ⊕ fast ganz gelöst. Bei der Beobachtung dieses Befundes zeigt sich nur noch ein ganz dünner Schimmer von roten Blutkörperchen. Vollständig negativ ist der letzte Befund: 0 vollständig gelöst.

Das Ergebnis der Ablenkungen, wie wir sie in den Tabellen XIV und XVI überblicken können, ist nun außerordentlich bemerkenswert. Erstens sehen wir, daß selbst von den Stämmen, die ganz typisch geblieben sind, nur wenige genau so stark noch mit dem Serum die Ablenkung ergeben wie die Ausgangsstämme; zweitens sehen wir, daß, je geringer die Zahl der typischen Punkte wird, desto geringer wird auch das Ablenkungsvermögen der Bakterien, jedoch verschwindet es bei keinem der Abkömmlinge vollständig. Besonders bei den Stämmen 131 sehen wir bei allen in dem ersten Röhrchen 0,1 Serum überall eine deutliche Ablenkung. Bei dem Stamm 117 ist es im wesentlichen genau so mit nur 2 Ausnahmen. Die Stämme 117 M IV e 1 und 117 M IV f 9 geben mit 0,1 Serum das Ergebnis ⊕, verhalten sich also zweifelhaft bzw. negativ. Auf die Bedeutung dieser Befunde wollen wir eingehen, wenn wir nun die nächsten Tabellen XV und XVII betrachtet haben.

Es wurden in diesen Tabellen die Ergebnisse zusammengestellt von Ablenkungen aller der Stämme, die ich aus dem Jahre 1913 zur Ver-

Tabelle XVII.

Zum Vergleich wurden folgende Stämme mit dem **Serum 131** auf Ablenkung geprüft:

Bezeichnung	Serumdosis 0,1	0,01	0,006	0,004	Bacillenkontrolle	derselbe Stamm war atypisch in den Punkten	also typisch in . . . Punkten
131 VIII	++	++	+	±	0	—	**5**
117 VIII	++	++	±	⊕	0	—	**5**
Di. 229	++	+	0	0	0	—	**5**
Di. Grw.	++	+	⊕	0	0	—	**5**
Di. 89	±	⊕	0	0	0	—	**5**
Di. 2211	±	⊕	0	0	0	—	**5**
Di. 2215	±	0	0	0	0	—	**5**
Di. 463	+	±	0	0	0	**n**	**4**
375	+	±	0	0	0	**n t/2 v**	**2½**
84	±	⊕	0	0	0	**m/2 v**	**3½**
Ps. Grw.	⊕	0	0	0	0	**m n t s v**	**0**
Ps. 160	⊕	0	0	0	0	**m n t s v**	**0**
Xerose	⊕	0	0	0	0	**m n t s v**	**0**

Kontrolle: Serum allein überall gelöst.

Ablenkungsversuche mit anderen Bakterien mit Serum 117 und 131 hatte beide Male folgendes Ergebnis:

	Serumdosis 0,1	0,01	0,006	0,004	Bac.-Kontr.
Staphylokokken	0	0	0	0	0
Staphylokokken + Subtilis-Gemisch	0	0	0	0	0
Loeffler-Serum-Abstrich (steril)	0	0	0	0	0

fügung hatte. Es waren dies im ganzen 5 echte Diphtheriebacillen, 2 zweifelhafte und 2 Pseudostämme. Außerdem benutzte ich noch für das Serum 117 den Stamm 131 zur Kontrolle und umgekehrt; und außerdem 2 neu herausgezüchtete Stämme, einen echten Diphtheriebacillus und einen Pseudodiphtheriebacillus, so daß die Zahl der Kontrollen in jedem Fall gerade 12 betrug. Beide Tabellen, sowohl die mit dem Serum 117 wie 131, zeigen nun übereinstimmend, daß keine der Kontrollen, auch die echten Diphtheriebacillen nicht, so stark mit dem Serum ablenken wie der homologe Stamm. Ja, der Stamm 89 z. B., ferner die Stämme 2211 und 2215 verhielten sich nicht anders als die stark umgewandelten Stämme oben. Desgleichen der atypische, aber virulente Stamm 462. Die Stämme 375 und 84, die zu den zweifelhaften gehörten, verhielten sich mit Serum 131 schwach positiv, mit Serum 117 negativ (in den höheren Dosen [0,1] schien das Serum 131 etwas kräftiger abzulenken). Im Vergleich dazu verhielten sich die Pseudodiphtheriebacillen nun außerordentlich kennzeichnend. Mit dem Serum 117 sind alle drei ganz negativ. Bei dem Serum 131 findet sich in den ersten Röhrchen mit 0,1 Serum noch ⊕.

In beiden Versuchsserien ist jedoch der Unterschied zu unseren Verwandlungsstämmen außerordentlich stark. Bei dem Stamm 131 war keiner der verwandelten Stämme bis zur vollkommenen Negativität und auch nicht bis zu ⊕ mit 0,1 Serum gelangt. Bei dem Stamm 117 sind es nur die Stämme, die wir schon oben erwähnt, M IV e 1 und M IV f 9, die bei 0,1 Serum ⊕ zeigten, während die natürlichen Pseudodiphtheriebacillen mit Serum 117 ganz negativ waren. Es ist uns sehr wichtig, zu sehen, daß gerade diese beiden Stämme zu

den am stärksten veränderten gehören, M IV f 9 ist bei der späteren Prüfung in 0 Punkt, M IV e 1 nur noch in ½ Punkte typisch (atypische Neisser-Färbung). Zu der Beurteilung der Versuche ist dabei noch zu bemerken, daß die Ablesung vollkommen unbeeinflußt geschah, indem die verschiedenen Stämme zuerst zusammengestellt und mit einfachen Nummern bezeichnet worden waren. Die Ablenkungsröhrchen bekamen nur die Nummer der betreffenden Stämme. Es war bei der Ablesung vollkommen unmöglich, im Gedächtnis zu behalten, welche Stämme den einzelnen Nummern entsprachen, und selbst wenn diese bekannt gewesen wären, so genügte das Erinnerungsbild, das dadurch ausgelöst wurde, doch noch nicht, um nun sämtliche Eigenschaften des betreffenden Stammes vor Augen zu sehen. Dazu ist die Fülle der beobachteten Einzeleigenschaften bei den vielen Stämmen zu erdrückend. Zum Schluß geben wir noch in Tabelle XVII den Ablenkungsversuch mit einigen anderen Bakterien, sowie mit einem Abstrich von einem sterilen Hammelserumröhrchen, da vielleicht der Einwand erhoben werden könnte, daß das mit in die Röhrchen gebrachte Hammeleiweiß als Antigen wirken und so die Reinheit der Reaktion trüben könnte. Wie Tabelle XVII zeigt, sind diese Versuche mit beiden Seren vollkommen negativ ausgefallen.

Zusammenfassend über diese Versuche können wir also feststellen, daß sich mit dem Ablenkungsverfahren ein unverkennbarer Unterschied zwischen unseren künstlich erzeugten Stämmen und den in der Natur vorkommenden Pseudodiphtheriebacillen finden ließ. Letztere waren mit dem ablenkenden Diphtherieserum 117 und 131 negativ, die verwandelten Stämme zeigten mit zwei Ausnahmen einen deutlich positiven Ausschlag. Zwei hatten fast ein negatives Ergebnis, gerade diese haben jedoch das eine mit den in der Natur vorkommenden Diphtheroiden gemeinsam, daß sie in keinem der entscheidenden 5 Punkte mehr ganz typisch zu nennen sind, es fehlt ihnen jede Eigenschaft der Diphtheriebacillen. Wie uns die oben angegebenen Tabellen VIII, IX und XIII aber zeigen, ist das gerade der Hauptunterschied zwischen den in der Natur gefundenen und den meisten von uns erzeugten diphtheriebacillenähnlichen Bakterien. Jene sind in der Mehrzahl in allen Punkten vollkommen abweichend, diese nur in der Minderzahl. Aber selbst wenn einer der veränderten Stämme auch sämtliche Eigenschaften verloren hat, so kann er sich bei der Ablenkungsreaktion doch noch von den natürlichen Diphtheroiden unterscheiden; das zeigt z. B. der Bacillus 117 M V d 1, der mit 0,1 Serum 117 deutlich positives Ergebnis aufwies, das zeigt ferner der Stamm 131 M IV c 1, der auch alle 5 Diphtheriebacilleneigenschaften verloren hatte und doch mit dem Serum 131 im ersten Röhrchen deutlich positiv reagiert, im zweiten Röhrchen gerade auf der Grenze zu negativ steht.

Als letztes Ergebnis auf die uns oben gestellten Fragen können wir also folgende Antwort geben:

Die Umwandlung der echten Diphtheriebacillen durch den Tierkörper kann zu allen Stadien von der flüchtigen, sofort rückschlagenden bis zu der alle Punkte umfassenden Veränderung führen.

Dieser Umschlag geschieht dabei in langsamem Fortschreiten; nicht plötzlich, sondern nach und nach werden die Eigenschaften der Bakterien abgebaut.

Die daraus sich herleitenden vielen Zwischenformen, sowie die durch die Ablenkung bewiesenen Verwandtschaftsbeziehungen der verschiedenen Formen zueinander, schließlich die Rückschläge geben uns die Gewißheit, daß sie wirklich veränderte Formen, Abkömmlinge der eingespritzten Bacillen sind.

II.

Folgerungen für die Beurteilung der natürlich vorkommenden Pseudodiphtheriebacillen.

Wie ich schon ausgeführt hatte, hing die Entscheidung, ob Diphtheriebacillen und Pseudodiphtheriebacillen zu einer großen, entstehungsgeschichtlich einheitlichen Gruppe zusammenzufassen sind, zum großen Teil von der Beantwortung der Frage ab, ob es gelingen würde, Uebergänge dergestalt zu finden, daß einzelne Bakterien einen Teil der Eigenschaften des Diphtheriebacillus besitzen, in anderer Beziehung jedoch zu den Diphtheroiden gehörten. Bei der Suche nach solchen Bakterien in der Natur ist es offenbar außerordentlich schwierig, diese Uebergänge aufzufinden. Es war also der gegebene Weg, sie künstlich entweder aus dem einen oder anderen Bakterium herzustellen.

Diese Aufgabe ist uns in den vorliegenden Umwandlungsversuchen offenbar gelungen; denn wir konnten aus typischen Diphtheriebacillen reiner Linien, wenn man nur über die genügende Ausdauer verfügte, nicht nur eine beliebige Anzahl vollständig veränderter Bakterien erzeugen, sondern es gelang auch die Darstellung von allen Arten von Zwischenstufen.

Es fragt sich nun, ob hiermit tatsächlich die alte Streitfrage von Grund auf im Sinne der Einheitslehre gelöst ist. Es könnte ja immer noch die Möglichkeit bestehen, daß die in der Natur auffindbaren Pseudodiphtheriebacillen vielleicht in ihrem Stammbaum vor Urzeiten zwar einen Zusammenhang mit den Diphtheriebacillen haben, doch ist diese Differenzierung vielleicht schon vor so langer Zeit erfolgt, daß die beiden Formen als feste Differenzierungen anzusehen sind.

Aber dem widersprechen doch weitere Beobachtungen. Die Tatsache, daß sich die Pseudodiphtheriebacillen vorzugsweise gerade bei Diphtherierekonvaleszenten und Bacillenträgern finden, wäre damit nicht erklärt. Solche Beobachtungen, daß sich die Diphtheroiden hauptsächlich nach Diphtherieerkrankungen finden, sind schon von Roux und Yersin gemacht worden, und auch die von mir im Jahre 1913 gezüchteten Pseudodiphtheriebacillen stammten vorzugsweise aus den Abstrichen von Rekonvaleszenten und Bacillenträgern (s. Tabelle XVIII).

Tabelle XVIII.

Art der untersuchten Fälle:	1. echte Diphtherie	2. Nasendiphtherie	3. Angina und zweifelh. Diphtherie	4. Abgelaufene Diphtherie	5. Bacillenträger
Zahl der untersuchten Fälle:	18	4	4	10	2
Darunter fanden sich „zweifelhafte“ und Diphtheroide:	1	3	3	5	2

Bei den 12 „abgelaufenen Diphtherieen“ und „Bacillenträgern“ wurden also 7 zweifelhafte und Diphtheroide gefunden.

Unter 202 klinisch unverdächtigen Fällen zur gleichen Zeit: 5.

Immerhin ist damit noch kein vollgültiger Beweis geliefert, daß nun tatsächlich die natürlich vorkommenden Diphtheroiden sich in der

Hauptsache von echten Diphtheriebacillen ableiten. Es bedürfte dazu noch planmäßiger Untersuchungen am Menschen, indem aus den Diphtheriekranken die Diphtheriestämme herausgezüchtet und mit einem mit diesen Stämmen hergestellten ablenkenden Serum dann Ablenkungsversuche mit den Diphtheroiden, die sich eventuell in der Rekonvaleszenz desselben Kranken finden, angestellt würden. Es wäre möglich, daß auf diese Weise der Ring zum Beweise geschlossen würde.

Noch eines bleibt aber zu erklären, wenn wir wirklich die Entstehung der Pseudodiphtheriebacillen, die wir in der Natur finden, wenigstens zum Teil als abstammend von den Diphtheriestäbchen ansehen wollen. Warum finden sich unter diesen Diphtheroiden in der Mehrzahl solche, denen alle 5 Punkte fehlen, während wir bei unseren Umwandlungsversuchen im Tierkörper meist nur eine Umwandlung bis zu 4 Punkten erreichten? Es ließe sich damit erklären, daß auf den Tonsillen des Diphtheriekranken die Abschwächungen zwar nicht so plötzlich, aber durch die lange Einwirkung der Körpersäfte gründlicher erfolgen, als es in unseren etwas gewaltsamen Tierversuchen gelingt. Vielleicht läßt sich zu solchen Versuchen auch noch das Verfahren des Kollodiumsäckchens in der Bauchhöhle mit Vorteil benutzen. Daß hier tatsächlich Einwirkung der Körpersäfte durch das Häutchen hindurch erfolgte, das konnte in dem zeitweisen Verschwinden der Neisser-Färbung beobachtet werden. Vielleicht ist es auch hier nur eine Frage der Ausdauer, um tiefgreifende und dabei schonendere Veränderungen des Bakteriums hervorzurufen.

Jedenfalls sind durch die Abänderungsversuche die Anschauungen von Roux und Yersin, Behring u. a., die das Zusammengehören der Diphtheriebacillen und der Diphtheroiden in eine große Gruppe fordern, um eine mächtige Stütze bereichert worden.

III.

Schlußfolgerungen für die Lehre der Bakterienveränderungen.

Nachdem wir uns im letzten Abschnitt darüber klar geworden sind, was die erzielten Veränderungen für die Sonderfragen der Diphtheriebacillenforschung bedeuten, ist es jetzt an der Zeit, uns der letzten Entscheidung zuzuwenden, welche Schlußfolgerungen wir aus den angeführten Ergebnissen für die Vererbungslehre bei Bakterien ziehen können.

Auch hier können wir wieder zwei Unterfragen trennen: erstens was ist wirklich beobachtet, und wie haben wir die geschauten Veränderungen einzureihen, zu benennen?

Um diese Fragen mit der notwendigen Gründlichkeit abzuhandeln, muß ich auch auf Beobachtungen und Versuche Bezug nehmen, die andere Forscher an anderen Bakterien gemacht haben.

Der beschränkte Raum, der mir zur Besprechung noch übrigbleibt, gestattet mir leider nicht, hier auf alle Arbeiten und Beobachtungen näher einzugehen, das soll einmal an anderer Stelle geschehen. Hier sei nur das Wichtigste für die Klärung der verschiedenen Fragen hervorgehoben.

Wie wir gesehen, konnten wir dreierlei Erscheinungen beobachten: Steigerung, Verschwinden und Wiederauftreten von Eigenschaften. Die erste, die Steigerung, ist nicht übermäßig gewesen, sie ist nicht derart, daß man von der Entstehung einer „neuen Rasse“ oder „Art“ sprechen könnte, ganz abgesehen davon, daß sie auch nur vereinzelt bisher beobachtet wurde.

Auch das Wiederauftreten von verlorenen Eigenschaften geschah nur in einem Teil der Fälle und auch da oft nur teilweise.

Es bleibt also in der Hauptsache der zweite Punkt zu besprechen, das „Verschwinden“ von Eigenschaften. Hierbei haben wir uns nun verschiedene Fragen vorzulegen:

1) Ist dies eine richtungslose Bildung einer neuen Art?
2) Oder ist es eine „Anpassung an den Tierkörper“?
3) Oder ist es eine „Entartung“?

Bisher habe ich es im Interesse einer möglichst sachlichen Darstellung vermieden, mich irgendeiner besonderen Benennungsart für die beobachteten Verwandlungsformen zu bedienen. Wie man sieht, kam ich, ohne irgendwo anzustoßen, mit dem farblosen Worte „Veränderung“ aus.

Die bisher vorliegenden Arbeiten hielten sich zum allergrößten Teil nicht in dieser Grenze, das „οἶδα ὅτι οὐκ οἶδα“ wagten nur wenige auszusprechen, zu allermeist wurden die beobachteten Verwandlungen sofort als „Mutationen“ gedeutet. Außerdem bildete nun fast jeder nach seinem jeweiligen Beobachtungsstoff den Sinn des Wortes Mutation wieder um, so daß ein ganzer Wirrwarr von Vorstellungen, die alle diesem Begriffe unterlegt wurden, entstand.

Es scheint mir an der Zeit, daß damit einmal ein Ende gemacht wird, und die Stelle, die für die Umgrenzung des Begriffes maßgebend ist, wieder zu ihrem Rechte gelangt.

de Vries sagt in seinem Vorwort zur „Mutationstheorie“: „Aufgabe des vorliegenden Werkes ist es demgegenüber zu zeigen, daß Arten stoßweise entstehen und daß die einzelnen Stöße Vorgänge sind, welche sich ebensogut beobachten lassen, wie jeder andere physiologische Prozeß.“

„Die Stöße oder Mutationen, von denen die Sprung-Variationen die bekanntesten Beispiele sind, bilden eine besondere Abteilung in der Lehre von der Variabilität. Sie geschehen ohne Uebergänge und sind selten, während die gewöhnlichen Variationen kontinuierlich und stets vorhanden sind.“

Klarer und deutlicher kann es gar nicht ausgedrückt werden, was eine Mutation ist:

Eine Mutation geschieht plötzlich, ohne Uebergänge und richtungslos;
sie wird zum Ausgangspunkt einer neuen Art, ist daher im allerstrengsten Sinne erblich;
von ihr werden nur einzelne Individuen einer Art befallen, nie alle, sie ist daher sehr selten.

Selbst wenn der Punkt 2 von de Vries selbst eingeengt wurde, indem er spätere Rückschläge annahm, ist dann wirklich der Standpunkt vieler Bakteriologen, wie er z. B. von Baerthlein vertreten wird, berechtigt, daß „Mutationen“ bei allen Bakterien fast regelmäßig zu beobachten sind, und daß diese neuen Formen dann mit gleicher Regelmäßigkeit „zurückmutieren“? Das heißt doch den Sinn der de Vriesschen Lehre ganz verdrehen. Es sollen doch durch die Mutation „neue Arten“ entstehen. Es ist das aber doch keine neue Art, wenn sie nach 10 oder 100 oder 1000 Tagen plötzlich wieder den alten Typus annimmt.

Auch die anderen von de Vries geforderten Eigenschaften der Mutation pflegen bei den als solchen beschriebenen Veränderungen zu fehlen. Burri u. a. konnten nachweisen, daß erstens die zumeist untersuchte Eigenschaft der Neuerwerbung von irgendeiner Zuckervergärung nicht plötzlich, sondern im langsamen Anpassen erworben wird (daher auch nicht richtungslos), und zweitens, daß von dieser Aenderung tatsächlich alle Individuen befallen werden.

Ueberhaupt erscheint es mir zweifelhaft, ob die Neuerwerbung der Vergärung eines Zuckers bei schon bestehender Vergärungsfähigkeit für andere Zucker die Erwerbung einer neuen Arteigenschaft bedeutet. Wir benützen diese Einteilung doch bei einigen Bakterien nur aus praktischen Gründen, nämlich darum, weil wir an ihnen sonst keine großen Unterschiede feststellen können. Ueberdies wissen wir über die Fermente und ihre Spezifität noch viel zu wenig, als daß wir solche Unterschiede für grundlegend betrachten dürften. Wer weiß zu sagen, daß ein Ferment sich nicht ohne große Mühe einem neuen Zucker anzupassen versteht? Dann haben wir dasselbe Ferment mit zwei Vergärungsfähigkeiten. Erst dann könnten wir die Vergärung verschiedener Zucker als grundlegenden Unterschied anerkennen, wenn wir gewiß wüßten, daß zu denselben auch zwei ganz verschieden konstituierte Fermente gehören. Davon sind wir noch weit entfernt.

Diese Einwände sind auch dem Versuche von Seiffert zu entgegnen, durch den es zu zeigen gelang, daß künstlich malachitgrünfest gemachte Coli-Stämme die Fähigkeit bekamen, Rohrzucker zu vergären,

was der Ausgangsstamm nicht konnte. Ohne Zweifel ist dies eine neue „Errungenschaft"; ob sie aber genügt, um eine neue Art aufzustellen, das ist durchaus nicht klar, und somit ist der Vorgang keine „Mutation" im Sinne von de Vries. Besonders wo ja in der Natur Coli-Stämme vorhanden sind, die Rohrzucker vergären [1]).

Entweder sind physiologische Unterschiede, wie die Vergärungsfähigkeit, zur Unterscheidung von Arten zuzulassen oder nicht. Gerade aber in der Bakteriologie wurde hier mit zweierlei Maß gemessen.

So fiel es niemand ein, auch nicht dem strengsten Dualisten, die avirulenten, aber sonst typischen Diphtheriestämme für eine gesonderte „Art" zu halten, obwohl die Virulenz auch ein und zwar sehr großer physiologischer Unterschied ist.

Durchaus folgerichtig wurde daher vor einiger Zeit von Kraus und Loewy ein Hühnerpestvirus, das auch für Gänse virulent war, als eine Varietät beschrieben. Aber sowie ein Bacillus der Coli-Gruppe eine neue Vergärungsfähigkeit zu seinen vielen anderen erhielt, dann wurde dies als Mutation, also ein artbildender Prozeß angesprochen.

Von de Vries ist die Mutationstheorie erdacht als Erklärung der Aufwärtsentwickelung der Lebewesen. Sie sollte die ihm unglaubhaft erscheinende Selektionstheorie Darwins ersetzen. Es müssen also durch die Mutation „höhere Arten", die durch ganz neue Eigenschaften, hervorstechen, gebildet werden. Wie steht es damit bei der Bakterien-„Mutation"?

Die oben geschilderte und als Arteigenschaft abgelehnte Erwerbung neuer Zuckervergärung ist tatsächlich das einzige, was an progressiven „Mutationen" beschrieben worden ist. Alles andere sind „Verlust-Mutationen".

Es ist gelungen, Bakterien die Virulenz, das Kapselbildungsvermögen, die Sporenbildung usw. zu nehmen, aber nie ist es bisher gelungen, solche Eigenschaften neu bei Bakterien hervorzurufen. Die Versuche von Mühlmann, der echte Ruhrbacillen in bewegliche Stäbchen durch alkalische Nährböden verwandelt haben will, sind nicht genügend gestützt und bisher nicht bestätigt, desgleichen die Umwandlung von Streptokokken in Pneumokokken und umgekehrt von Rosenow.

Ein Grund, der häufig für die Berechtigung der Bezeichnung Mutation angegeben wird, ist die Beobachtung des plötzlichen Auftauchens. Aber gerade das ist nun etwas, das wir bei den Bakterien am allerwenigsten beobachten können. Es werden hier ja keine Einzelwesen, sondern immer nur große Massen in einer Kultur beobachtet. Jede Kolonie besteht ja schon aus Millionen von Generationen; wenn also von einer Kultur zur anderen Aenderungen beobachtet werden, so können dieselben doch auch ganz allmählich sich ausgebildet haben.

---

1) Weiter ist zu dem Versuche Seifferts folgendes zu bemerken: Aus seiner Veröffentlichung (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 71. p. 561) geht leider nicht hervor, welches Malachitgrün zu den Versuchen benutzt wurde.

Diese Frage ist deshalb von Wichtigkeit, weil viele Malachitgrünarten einen ziemlich hohen Prozentsatz Dextrin enthalten.

Hat aber Seiffert mit dextrinhaltigem Malachitgrün gearbeitet, dann ist seine Schlußfolgerung, „daß jeder Einfluß einer eventuellen Anpassung fehlt", hinfällig.

Rohrzucker ist ein Spaltungsprodukt des Dextrins, und außerdem ist bisher kein Ferment bekannt, das Dextrin spaltet, das nicht auch Rohrzucker spalten könnte. Es könnte sich also in obigem Falle um eine Dextringewöhnung handeln und die plötzliche Vergärung des Rohrzuckers hätte mit der eigentlichen Giftfestigkeit nichts zu tun!

Jedenfalls fehlt jeder Beweis für den plötzlichen Eintritt der Aenderung und ist dieser auch keinem möglich. Der Vorschlag von Eisenberg, die ganze Kultur als einen den Metazoen entsprechenden Zellenstaat, als ein Einzelwesen zu betrachten, erscheint mir nicht der Wirklichkeit angepaßt. Der Vergleich ist schon deshalb unzulässig, weil bei den Bakterien ja jede Zelle sich selber fortpflanzt, was bei den Metazoen nicht der Fall ist.

Also auf diesem Wege ist es nicht möglich, die Plötzlichkeit des Umschlages festzuhalten.

Wir sehen also, von den drei Gründen, die de Vries zur Aufstellung des Mutationsbegriffes bewogen haben, ist kein einziger bisher beschriebener für die Bakterienveränderungen restlos anwendbar.

Folgerichtig ist also der Begriff der Mutation aus der Bakteriologie so lange zu verbannen, bis diese Vorbedingungen erfüllt sind.

Wenn die Veränderungen einen Namen erhalten sollen, und ein solcher gebührt ihnen wohl auch, so genügt ein Name, der kein Urteil über Entstehung etc. vorausnimmt. Dafür genügt der Ausdruck Variation. In welcher Weise die Art der Variation genauer bestimmt werden kann, dafür sollen weiter unten Vorschläge gemacht werden.

Zunächst müssen wir jetzt zu unserem eigenen Beobachtungsstoff zurückkehren. Wir beobachteten Veränderungen, die alsbald wieder verschwanden, die also nach dem Sprachgebrauch als nicht erblich bezeichnet werden; ferner solche, die sich eine Zeitlang hielten und dann rückschlugen, und drittens solche, die, wenigstens solange die Beobachtung dauerte, anhielten, die sich also wahrscheinlich als feststehend ansehen ließen.

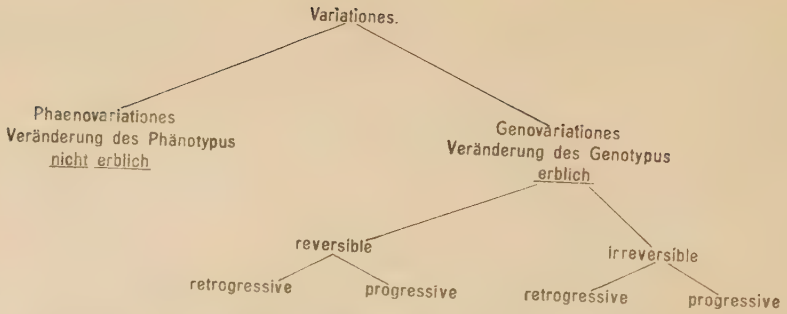
Es muß hier auf einen Punkt hingewiesen werden, der nach meiner Ansicht noch nicht genügend betont worden ist, nämlich, daß wir bei den Bakterien eigentlich nie unvererbliche Eigenschaften beobachten können. Selbst wenn nur die allererste Kultur die Veränderung zeigt, die zweite schon wieder ganz typisch ist, so muß sich die Verwandlung doch in der ersten Kultur vererbt haben, besteht dieselbe doch aus Millionen von Generationen. Nicht-erbliche Veränderungen könnten wir, streng genommen, nur im Mikroskop an den einzelnen Individuen beobachten.

Der Unterschied zwischen der ersten und zweiten soeben unterschiedenen Gruppe besteht daher nur dem Grade nach, ist nicht grundsätzlich. Ob ein solcher grundsätzlicher Unterschied zwischen der zweiten und dritten besteht, ist auch nicht bestimmt zu beantworten, immerhin ist es wahrscheinlich.

Die von uns beobachteten Veränderungen bestanden alle in einem Verlust von Eigenschaften. Wir konnten die Merkmale eines Diphtheriebacillus in 5 Punkten auflösen. Jeder einzelne dieser Punkte konnte ganz oder geteilt ausgemerzt oder latent werden und zwar allein oder in Verbindung mit anderen. Dieses Verhalten paßt gut zu der Lehre der Genen oder Erbeinheiten von Johannsen.

Werden bei der Veränderung die Einheiten nicht unterdrückt oder vernichtet, dann ist nur der Phänotypus verändert, werden aber die Genen erreicht, dann ist auch der Genotypus abgeändert und damit auch die Veränderung erblich.

In Anlehnung an Johannsens Lehre möchte ich daher folgende Einteilung vorschlagen.



Den nicht-vererbbaren Variationen des Phänotypus (Phänovariationen) sind bei Bakterien, streng genommen, nur die unter dem Mikroskop an den einzelnen Individuen erkennbaren zuzuzählen. Die gewöhnlich beobachteten rasch rückschlagenden, bisher als nicht erblich angesehenen Veränderungen gehören bereits zu den Genovariationen, allerdings sind sie besonders leicht reversibel. In dieselbe Gruppe gehören alle rückschlagenden Veränderungen, ganz gleichgiltig, ob der Rückschlag sehr bald oder sehr spät erfolgt. Alle diese Veränderungen können im Verlust oder im Neuerwerb von Eigenschaften bestehen. Erfolgt der Rückschlag in einigermaßen festgelegten Zeiten vor und wieder zurück, wie es die von Baerthlein als Mutationen beschriebenen Veränderungen tun, so könnte man für diese den besonderen Namen der zirkulären Variationen benutzen, hierzu gehört auch das Bact. coli „mutabile“. Erfolgt nach geraumer Zeit kein Rückschlag, so ist die Variation als irreversibel anzusehen.

Erst wenn einmal der Nachweis geliefert werden sollte, was ja durchaus möglich ist, daß eine gewiß neue Eigenschaft richtungslos und irreversibel entstanden ist, wäre man allenfalls berechtigt, von einer Mutation im Sinne von de Vries zu sprechen.

Bei unserem Untersuchungsstoff haben wir neu nur Verlust, nie Neuerwerb von Eigenschaften beobachtet. Es ist im wesentlichen das gleiche was Bail, Preisz u. a. am Milzbrand, Toennissen an den Friedländer-Stäbchen beobachtet haben. Zum Teil sind die beobachteten Veränderungen irreversibel, zum anderen reversibel, alle retrogressiv. Damit haben wir alles festgestellt, was wir beantworten können. Wie wenig wir über den Zweck und Sinn der Veränderungen wissen, können wir ersehen, wenn wir versuchen wollten, die oben aufgestellten Fragen zu beantworten.

So viel ist sicher, die erzielten Veränderungen sind sehr schwerwiegender Natur. Die herausgezüchteten Varietäten waren zum Teil in allen 5 Punkten verändert.

Der Unterschied, der zwischen den Diphtheroiden und den Diphtheriebacillen besteht, erschien bisher vielen groß genug, um beide für ganz getrennte Arten zu halten. Wenn an dieser Meinung festgehalten werden müßte, dann wäre hiermit aber eine Artumwandlung vollbracht.

Aber die Zwischenformen, die es uns gelang sowohl in der Natur, wie noch zahlreicher in unseren Versuchen aufzufinden, machen es doch wahrscheinlich, daß eigentlich alle in eine große Gruppe zusammengehören. Immer bleibt jedoch noch Verschiedenes rätselhaft. Wenn die Pseudodiphtheriebacillen vielleicht alle von den echten Di-

phtheriebacillen abstammen, warum erfolgt dann nie ein Rückschlag zum virulenten Typus?

In früherer Zeit pflegte man Beobachtungen wie die vorliegenden rasch mit der Bezeichnung Degeneration zu erklären. Auch uns sprechen manche Gründe dafür, daß in gewisser Weise Entartung dabei mit im Spiele ist. Dahin gehören das häufige Auftreten von abnormen Wuchsformen, die geringe Wachstumskraft besonders im Anfang, ferner das Eingehen so vieler Stämme, ferner die Beobachtung, daß die verschiedenen Eigenschaften in so willkürlicher Weise verschwinden, schließlich die Beobachtung, daß niemals mehr Stämme aus einem Meerschweinchen herausgezüchtet werden konnten, wenn der eingespritzte Stamm schon in mehreren Punkten verändert war. Alle diese Gründe könnten zu der Annahme führen, daß der Abbau der Eigenschaften durch weiter gar nichts hervorgerufen wäre, als daß die Bakterien in dem Augenblick, in dem sie auf den Nährboden gebracht wurden, durch die Körperkräfte bereits halb abgetötet waren und sie so in ihrer Lebenskraft geschädigt sind, daß sie ihre besten Eigenschaften für immer verloren hatten.

Aber andererseits kann auch mit gleichem Recht gesagt werden, daß Virulenz dem Diphtheriebacillus vielleicht nur zufällig eigentümlich ist, etwa so, wie dem Tetanusbacillus; daß dann das Fehlen dieser Eigenschaft gar keinen Verlust darstellt, sondern vielleicht im Gegenteil einen Gewinn, daß der Bacillus an seinem neuen Standorte (Rachenschleimhaut) anaërobes Wachstum und Zuckervergärung gar nicht mehr nötig habe, da er bessere Verhältnisse und reichlichere Nahrung hier antrifft, kurz, daß der Verlust aller dieser Eigenschaften nur das Ziel einer erhöhten Anpassung sei!

Es ist sicher, das Optimum für Leben und Gedeihen dieser Formen braucht nicht so zu sein, wie es sich der menschliche Verstand zurechtlegt. Gerade in das auf Tiere und Pflanzen angewandte Urteil „Degeneration“ mischt sich uns unbemerkt oft ein gutes Stück anthropozentrischen Denkens. Darum sind vorschnelle Urteile abzulehnen, bis bessere Erkenntnis der Lebensbedingungen und Lebensverhältnisse uns tiefere Einsicht verschaffen.

An sicheren Erfahrungen haben uns die Untersuchungen jedenfalls folgendes gebracht:

Es gelingt durch die Einspritzung in Meerschweinchen, reine Linien von Diphtheriebacillen aller ihrer typischen Eigenschaften zu berauben.

Dieser Abbau umfaßt alle Individuen und geht nach und nach vor sich, nicht sprungweise.

Außer dem Endgliede, der Veränderung in allen 5 Punkten, werden alle Uebergänge und Zwischenstufen gefunden.

Die Veränderungen sind zum Teil reversibel, zum Teil irreversibel, alle sind sie retrogressiv und Genovariationen zu benennen.

Der bisher für Veränderungen bei Bakterien vielfach gebrauchte Name Mutation ist irreführend und daher zu verwerfen; echte Mutationen sind bisher bei Bakterien noch nie beobachtet worden.

Schrifttum.

1) Firtsch u. Gruber, Arch. f. Hyg. Bd. 8.
2) Roux et Yersin, Annales de l'Institut Pasteur. T. 2—4.
3) Neisser u. Massini, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 38. 1906. Beih.
4) Bernhardt u. Panneth, ebenda. Bd. 57. 1913. Beih.
5) Jakobsthal, ebenda. Bd. 34. Beih.
6) Gräf, ebenda. Bd. 57. Beih.
7) Trautmann u. Dale, ebenda. Bd. 47. Beih.
8) Dale, ebenda. Abt. 1. Orig. Bd. 46.
9) Frosch, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 13.
10) Seiffert, ebenda. Bd. 71.
11) Burri, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 28.
12) —, ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 54.
13) de Vries, Die Mutationstheorie. Leipzig (Veit u. Co.) 1901—1903.
14) Kruse, Allgemeine Mikrobiologie. 1910.
15) Mühlmann, Arch. f. Hyg. 1909. Bd. 69.
16) Rosenow, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 73.
17) Kraus u. Loewy, ebenda. Bd. 76.
18) Römer, Berl. klin. Wochenschr. 1914.
19) Schmitz, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 75.
20) Bernhardt, ebenda. Bd. 79.

Wegen weiterer Literaturangaben sei auf die letztgenannten Arbeiten (No. 19 und 20) verwiesen.

Verzeichnis und kurze Beschreibung der Photographieen.
(Nach eigenen Aufnahmen vom Verfasser.)
Vergrößerung überall die gleiche, etwa 1000-fach.

Fig. 1. 117 VIII sehr lang, schlank.
„ 2. 117 M IV b 2 1. Züchtung enorme Degenerationsformen. Verzweigungen!
„ 3. 117 M IV b 3 2. Züchtung lang, sehr starr.
„ 4. 117 M IV b 3 Nach 1 Jahr mittellang, sehr plump.
„ 5. 117 M IV b 3 Nach 1 Jahr Neisser-Färbung ganz atypisch ausfüllend.
„ 6. 117 M IV c 4 1. Züchtung ziemlich kurz, parallel und klumpend.
„ 7. 117 M IV h 2 1. Züchtung mittellang, plump, Spindelformen.
„ 8. 117 M IV h 2 2. Züchtung, kurz, plump.
„ 9. 117 M IV h 2 α Vom 14. Okt. 1914 sehr kurz, plump.
„ 10. 117 M IV h 2 α Nach 1 Jahr etwas länger, aber plump und klumpend.
„ 11. 117 M IV h 2 β Vom 17. Okt. 1914 kurze und längere Formen. Spindelformen.
„ 12. 117 M IV h 2 β Nach 1 Jahr ziemlich kurz, plump, klumpend.

„ 13. 117 M IV h 4 1. Züchtung sehr lange Degenerationskeulen.
„ 14. 117 M IV h 4 2. Züchtung mittellang, Parallellagerung und klumpend.
„ 15. 117 M IV h 4 3. Züchtung ganz kurz, plump.
„ 16. 117 M V c 1 1. Züchtung große Degenerationskolben.
„ 17. 117 M V c 1 2. Züchtung mittellange, plumpe und aufgetriebene Degenerationsformen.
„ 18. 117 M V c 1 3. Züchtung Neisser-Färbung ganz atypische Riesenkörner, die dicken Degenerationsformen ganz blau. Viele Stäbchen negativ.
„ 19. 117 M V c 1 Nach 1 Jahr kurze und lange Stäbchen, mächtige Kürbisformen.
„ 20. 117 M V c 1 Nach 1 Jahr Neisser-Färbung. Degenerationsformen ganz blau. Körnchen unförmig groß, viele Stäbchen negativ.
„ 21. 117 M VI a 1 1. Züchtung mittellang und kurz, plump.
„ 22. 117 M VI a 1 2. Züchtung mittellang, plump, Spindelformen.
„ 23. 117 M VI a 1 Nach 1 Jahr lang, typisch!
„ 24. 117 M VI a 2 1. Züchtung lang, ziemlich typisch, etwas plump.

„ 25. 117 M VI a 2 2. Züchtung kurz, ganz pseudoartig, Parallellagerung.
„ 26. 117 M VI a 2 Nach 1 Jahr lang, typisch!
„ 27. 131 VIII lang, schlank.
„ 28. 131 M IV a 3 1. Züchtung lang, typisch.
„ 29. 131 M IV a 3 2. Züchtung Mehrzahl kurz, Parallellagerung.
„ 30. 131 M IV a 3 Nach 1 Jahr Fuchsinfärbung, Mehrzahl lang, plump.
„ 31. 131 M IV a 3 Nach 1 Jahr Neisser-Färbung atypisch, ganz ausfüllend, einige Stäbchen negativ.
„ 32. 131 M IV a 4 1. Züchtung eigentümliche Spindel- und Kürbisformen, viele schlecht färbbare „Schatten".
„ 33. 131 M IV a 4 2. Züchtung sehr plump.
„ 34. 131 M IV a 4 3. Züchtung ziemlich kurz, aufgetriebene plumpe Formen, klumpend.
„ 35. 131 M IV a 4 4. Züchtung mittellang und kurz, plump.
„ 36. 131 M IV a 4 5. Züchtung noch stärker klumpend.

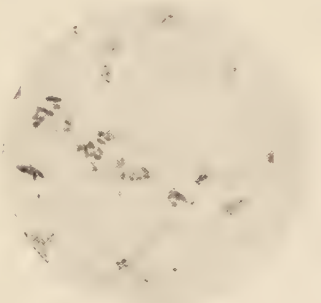
Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

1) 117 VIII.

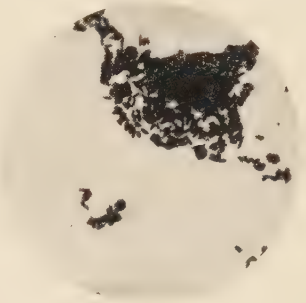
2) 117 M IV b 2 1. Zücht.

3) 117 M IV b 3 2. Zücht.

4) 117 M IV b 3 1 Jahr



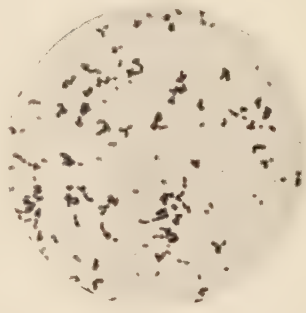
5) 117 M IV b 3 1 Jahr Neisser-Färb.



6) 117 M IV c 4 1. Zücht.

7) 117 M IV h 2 1. Zücht.

8) 117 M IV h 2 2. Zücht.



9) 117 M IV h 2 α v. 14. X. 14.

10) 117 M IV h 2 α 1 Jahr.

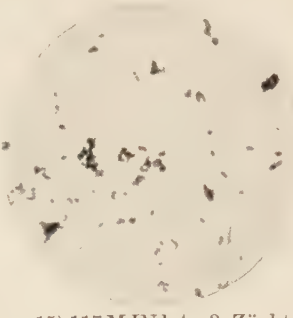
11) 117 M IV h 2 β v. 17. X. 14.

12) 117 M IV h 2 β 1 Jahr.

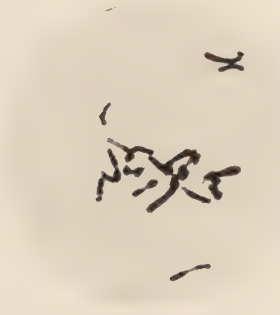
Verlag von **Gustav Fischer in Jena.**

13) 117 M IV h 4 1. Zücht.

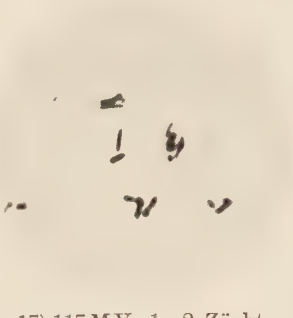
14) 117 M IV h 4 2. Zücht.



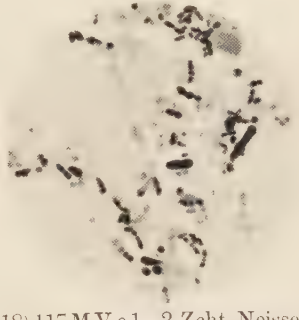
15) 117 M IV h 4 3. Zücht.



16) 117 M V c 1 1. Zücht.

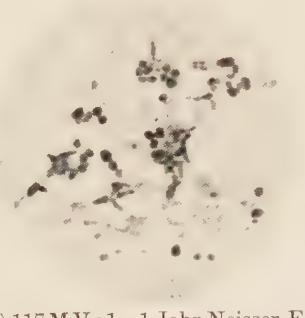


17) 117 M V c 1 2. Zücht.

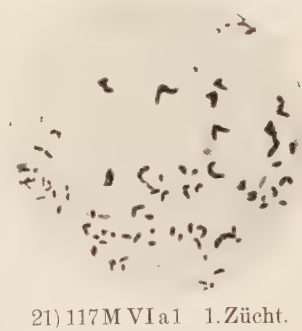


18) 117 M V c 1 2. Zcht. Neisser-F

19) 117 M V c 1 1 Jahr.

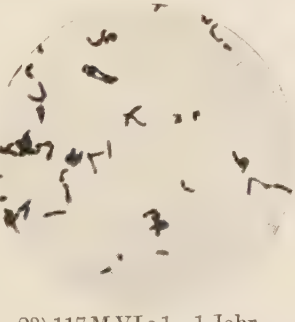


20) 117 M V c 1 1 Jahr Neisser-F.



21) 117 M VI a 1 1. Zücht.

22) 117 M VI a 1 2. Zücht.



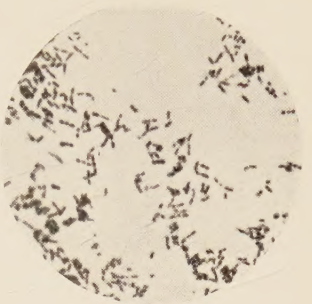
23) 117 M VI a 1 1 Jahr.

24) 117 M VI a 2 1. Zücht.

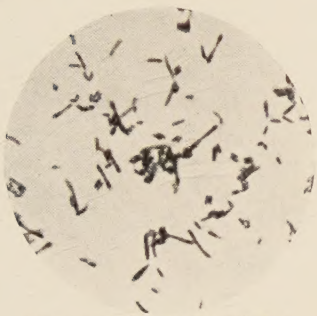
Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

25) 117 M VI a 2 2. Zücht.

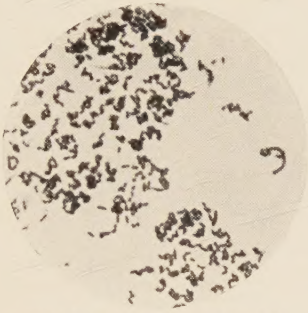
26) 117 M VI a 2 1 Jahr.



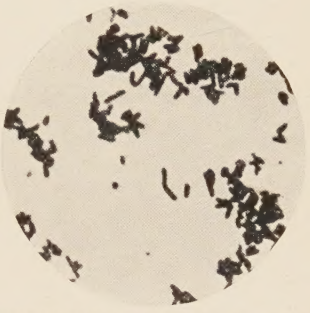
27) 131 VIII.



28) 131 M IV a 3 1. Zücht.

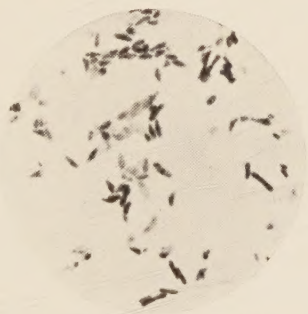


29) 131 M IV a 3 2. Zücht.

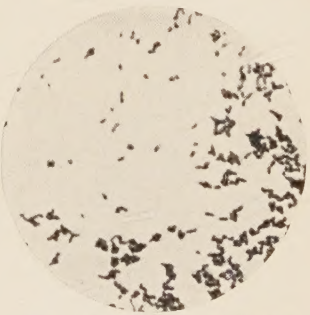


30) 131 M IV a 3 1 Jahr Fuchsinf.

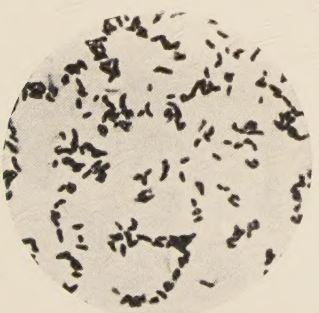
31) 131 M IV a 3 1 Jahr Neisser-F.



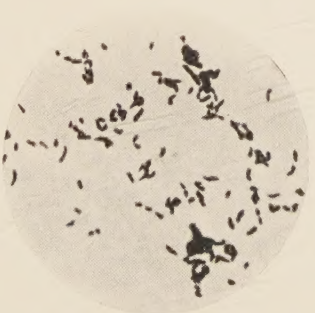
32) 131 M IV a 4 1. Zücht.



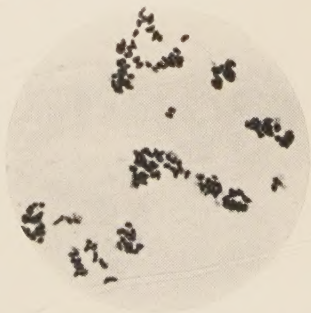
33) 131 M IV a 4 2. Zücht.



34) 131 M IV a 4 3. Zücht.



35) 131 M IV a 4 4. Zücht.



36) 131 M IV a 4 5. Zücht.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.